

Aus dem Medizinischen Zentrum für Nervenheilkunde

Direktor: Prof. Dr. med. L. Timmermann

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,

Standort Marburg

Re-Test-Reliabilität von TMS-Parametern bei gesunden Probanden

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin der

Philipps-Universität Marburg

vorgelegt

von

Caroline Duddek

aus Erfurt

Marburg 2020

Angenommen vom Fachbereich Medizin der
Philipps-Universität Marburg am 03.06.2020
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan:	Herr Prof. Dr. H. Schäfer
Referent:	Herr Prof. Dr. F. Rosenow
1.Korreferent:	Herr Prof. Dr. A. Jansen

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	1
Abbildungsverzeichnis	3
Tabellenverzeichnis	4
TEIL I - EINLEITUNG	5
1 DIE TRANSKRANIELLE MAGNETSTIMULATION (TMS)	5
1.1 Historische Entwicklung	5
1.2 Grundlagen der transkraniellen Magnetstimulation	5
1.3 Spulentypen	6
1.4 Sicherheitsaspekte der TMS	7
1.5 TMS-Parameter	8
1.5.1 Motorische Schwellen	8
1.5.2 Intrakortikale Inhibition und intrakortikale Fazilitierung	9
1.5.3 Cortical Silent Period	10
2 RE-TEST-RELIABILITÄT	11
2.1 Einführung	11
2.2 Einflussfaktoren	14
3 FRAGESTELLUNG	17
TEIL II - METHODEN	19
1 HINTERGRUND DER DATENGEWINNUNG	19
2 STUDIENDESIGN	20
2.1 Probanden	20
2.1.1 Einschlusskriterien	20
2.1.2 Ausschlusskriterien	21
2.2 Datenschutz, Aufklärung und Einverständniserklärung	22
2.3 Testzeitpunkte	23
2.4 Einflussfaktoren	23
2.5 Untersucher	24
2.6 Durchführung der TMS-Untersuchung	24
2.6.1 Ableitung	24
2.6.2 Datenaufzeichnung	24
2.6.3 Stimulation	25
2.6.4 Stimulationsparameter	25
3 STATISTISCHE AUSWERTUNG	29
3.1 Statistische Analyse	29

TEIL III - ERGEBNISSE	31
1 DEMOGRAPHISCHE DATEN	31
2 REPRODUZIERBARKEIT DER TMS-PARAMETER	34
3 EINFLUSS UNTERSCHIEDLICHER FAKTOREN AUF DIE RE-TEST- RELIABILITÄT	41
3.1 Untersucherabhängigkeit	41
3.2 Anzahl der Untersuchungen - Übungseffekt	45
3.3 Einfluss des Geschlechts	48
3.4 Einfluss des Genotyps	49
3.5 Re-Test-Intervall zwischen beiden Sessions	49
4 INTERAKTIONSEFFEKTE UND UNTERSUCHERSPEZIFISCHE UNTERSCHIEDE	50
TEIL IV - DISKUSSION	53
1 RE-TEST-RELIABILITÄT FÜR DIE EINZELNEN TMS-PARAMETER	54
1.1 Ruhe-Motorschwelle	54
1.1.1 Re-Test-Reliabilität	55
1.1.2 Inter-Subjekt-Variabilität	56
1.2 Intrakortikale Inhibition und Fazilitierung	56
1.2.1 Re-Test-Reliabilität	57
1.2.2 Inter-Subjekt-Variabilität	57
1.3 Cortical Silent Period	59
1.3.1 Re-Test-Reliabilität	59
1.3.2 Inter-Subjekt-Variabilität	59
1.3.3 Vergleich manuelle vs. automatisierte Methode zur Bestimmung der CSP-Dauer	60
2 EINFLUSS UNTERSCHIEDLICHER FAKTOREN AUF DIE RE-TEST- RELIABILITÄT	62
2.1 Untersucherabhängigkeit	62
2.2 Übungseffekt	64
2.3 Einfluss des Geschlechts	66
2.4 Einfluss des Genotyps	66
2.5 Intervall	67
3 KRITISCHE EVALUATION	68
TEIL V - ZUSAMMENFASSUNG	71
TEIL VI - LITERATURVERZEICHNIS	75

TEIL VII - ANHANG	96
1 PROBANDENINFORMATION	96
2 EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG	107
3 VERZEICHNIS AKADEMISCHER LEHRER	113
4 DANKSAGUNG	114

Abkürzungsverzeichnis

AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid
AMT	Aktivierte motorische Schwelle (activated motor threshold)
AV-Block	atrioventrikulärer Block
EEG	Elektroenzephalographie
EMG	Elektromyographie
GABA	Gamma-Amino-Buttersäure (gamma-amino-butyric acid)
CBZ	Carbamazepin
CS	Konditionierter Reiz (conditioned stimulus)
CSP	Corticale Silent Period
CV	Variationskoeffizient (coefficient of variation)
D-Welle	Direkte Welle
EHI	Edinburgh Handedness Inventory
EPSP	Exzitatorisches postsynaptisches Potential
FLE	Frontallappenepilepsie
ICI	Intrakortikale Inhibition (intracortical inhibition)
ICF	Intrakortikale Fazilitierung (intracortical fascilitation)
IGE	Idiopathische generalisierte Epilepsie
IPSP	Inhibitorisches postsynaptisches Potential
ISI	Interstimulusintervall
I-Welle	Indirekte Welle
KKS	Koordinierungszentrum für klinische Studien
LTP	Langzeit-Potenzierung (long-term potentiation)
MCD	Mean consecutive difference
MEP	Motorisch evoziertes Potential

MT	Motorische Schwelle (motor threshold)
NMDA	N-methyl-D-aspartase
OM	Observation method zur Bestimmung der MT
REM	Rapid eye movement
RMT	Ruhe-Motor-Schwelle (resting motor threshold)
SD	Standardabweichung
SICI	Kurze intrakortikale Inhibition bei ISIs von 1-4ms (short intracortical inhibition)
SMEI	Schwere myoklonische Epilepsie des Kindesalters
TES	Transkranielle elektrische Stimulation
TMS	Transkranielle Magnetstimulation
TR	Testreiz (test stimulus)
TS	Teststimulus
ZNS	Zentralnervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Darstellung der beiden Methoden zur Bestimmung der Cortical Silent Period	28
Abb. 2:	Signifikante Korrelation für den Testreiz (TR) zwischen beiden Sessions	35
Abb. 3:	Signifikante Korrelation für die Ruhe-Motor-Schwelle (RMT) zwischen beiden Sessions	36
Abb. 4:	Signifikante Korrelation für die intrakortikale Inhibition (SICI) zwischen beiden Sessions	37
Abb. 5:	Signifikante Korrelation für die intrakortikale Fazilitierung (SICI) zwischen beiden Sessions	38
Abb. 6:	Signifikante Korrelation für die manuell bestimmte Cortical Silent Period (CSP manuell) zwischen beiden Sessions	39
Abb. 7:	Signifikante Korrelation für die automatisiert bestimmte Cortical Silent Period (CSP automatisiert) zwischen beiden Sessions	40
Abb. 8:	Korrelationen für die automatisiert bestimmte Cortical Silent Period (CSP automatisiert) in Abhängigkeit eines Untersucherwechsels während beider Sessions	42
Abb. 9:	Korrelationen für die Ruhe-Motor-Schwelle (RMT) für die einzelnen Untersucher (n=4)	43
Abb. 10:	Korrelationen für die automatisiert bestimmte Cortical Silent Period (CSP automatisiert) für die einzelnen Untersucher (n=4)	44
Abb. 11:	signifikant höhere RMT-Werte für Untersucher 4 im Vergleich zu Untersucher 1 und Untersucher 2 während beider Sessions	52

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Anzahl der ausgewerteten Probanden (unterteilt in Gesamtanzahl und nach Ausschluss der Ausreißer)	33
Tabelle 2: Korrelationen der TMS-Parameter gesamt	34
Tabelle 3: Anzahl der untersuchten Probanden pro Untersucher und pro Session	41
Tabelle 4: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit des gleichen Untersuchers bei beiden Sessions	42
Tabelle 5: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit des Untersuchers	43
Tabelle 6: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit der Untersuchungsanzahl für Untersucher 1	45
Tabelle 7: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit der Untersuchungsanzahl für Untersucher 2	46
Tabelle 8: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit der Untersuchungsanzahl für Untersucher 3	47
Tabelle 9: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit der Untersuchungsanzahl für Untersucher 4	47
Tabelle 10: Korrelationen der TMS-Parameter geschlechtsspezifisch	48
Tabelle 11: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit des Genotypen	49
Tabelle 12: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit des Intervalls zwischen beiden Sessions inkl. Aufteilung der Geschlechter	50
Tabelle 13: Repeated measures MANOVA (n=93) mit dem Untersucher als vierstufigen Zwischen-Subjekt-Faktor (Untersucher 1, 2, 3, 4) und Session (Session 1, 2) als Inner-Subjekt-Faktor für die TMS-Parameter (TR, RMT, SICI, ICF, manuelle CSP, automatisierte CSP)	51
Tabelle 14: Mittlere RMT-Werte beider Sessions für alle Untersucher (n=4)	51
Tabelle 15: Post Hoc Analyse der RMT auf signifikante Unterschiede zwischen Untersucher 4 und den restlichen Untersuchern	51

TEIL I - EINLEITUNG

1 Die Transkranielle Magnetstimulation (TMS)

Die transkranielle Magnetstimulation (TMS) ist eine nicht-invasive Methode die u.a. zur Untersuchung der kortikalen Erregbarkeit eingesetzt wird und, die in der Klinik und Forschung breite Anwendung findet.

1.1 Historische Entwicklung

Nach den ersten Versuchen elektrischer Stimulation eines exponierten Hundehirns durch Fritsch und Hitzig 1870 gelang 1954 Gualtierotti und Paterson die elektrische Stimulation (TES) des menschlichen Kortex bei intakter Schädeldecke, die jedoch sehr schmerzhaft war. 1985 beschrieb Barker erstmals die weitaus weniger belastende Methode zur nicht-invasiven Untersuchung der zentralmotorischen Nervenbahnen mittels TMS.

1.2 Grundlagen der transkraniellen Magnetstimulation

Die transkranielle Magnetstimulation beruht auf dem Prinzip der elektromagnetischen Induktion. Durch einen kurzen und starken Stromfluss innerhalb einer Kupferdrahtspule wird ein zeitlich veränderliches Magnetfeld induziert, welches wieder herum selbst ein zur Erregung von Nervenfasern führendes elektrisches Feld im Hirngewebe induziert (Mills et al. 1987, Tergau et al. 1999).

Mithilfe der tangential zur Schädeloberfläche aufliegenden Spule entsteht im Kortex ein Stromfluss parallel zum Stromfluss innerhalb der Stimulationsspule mit entgegengesetzter Stromrichtung. Daraus resultierend werden hauptsächlich parallel zur Oberfläche (und somit parallel zum Stromfluss) verlaufende Nervenfasern stimuliert (Tofts et al. 1990).

Die Stärke des Magnetfeldes ist von verschiedenen Faktoren abhängig, wie z. B. von der Anzahl der Windungen, dem Spulenradius und der Stromstärke. Die Eindringtiefe

nimmt mit Entfernung von der Spule exponentiell ab (Roth et al. 1991). Die von Rudiak et al. (1994) angegebene Stimulationstiefe von ca. 18-21 mm weist darauf hin, dass sich die Grenze der Magnetstimulation im Motorkortex aus den großen tangential orientierten Fasern der oberflächlichen weißen Substanz oder der grauen Substanz am oberen Sulcus oder Rand des Gyrus präcentralis ergeben könnte.

Anhand tierexperimenteller Untersuchungen konnten Patton und Amassian et al. (1954) zeigen, dass nach oberflächlicher elektrischer Stimulation des Motorkortex unterschiedliche fortgeleitete Erregungswellen entstehen. Nach nur kurzer Latenz folgt die erste Welle (direkte Welle, D-Welle), die eine direkte Erregung des kortikospinalen Neurons entweder am initialen Segment des Neurons (Axonhügel oder einem der ersten Schnürringe) oder auf Höhe der subkortikalen weißen Substanz darstellt. Bei erhöhter Stimulationsintensität folgen auf die D-Welle die sogenannten indirekten Wellen (I-Wellen), die über eine synchrone transsynaptische Erregung der schnell leitenden Pyramidenbahnzellen deren indirekte Erregung anzeigen. Mittels elektrischer Stimulation ist die Schwelle zur Erregung der D-Wellen stets niedriger als die zur Erregung der I-Wellen (Hern et al. 1962).

Anhand von Vergleichsstudien mit der TES konnte durch die unterschiedlichen Leitungszeiten gezeigt werden, dass die TMS regelhaft eine um 1,4-2,7ms längere Latenz aufwies (Day et al. 1987). Daraus wurde geschlussfolgert, dass die TMS die kortikospinalen Neurone transsynaptisch erregt, während die elektrische Stimulation direkt an den kortikospinalen Neuronen zu einer Erregung führt (Day et al. 1987).

1.3 Spulentypen

Die am Häufigsten genutzten Modelle sind die Rundspule und die 8-förmige Spule, auch Schmetterlingsspule oder Doppelspule genannt. Im Gegensatz zur Rundspule mit einem torusförmigen Magnetfeld, das sein Maximum des erzeugten elektrischen Feldes zirkulär um ein Zentrum herum ausbildet, summieren sich bei der 8-förmigen Spule die beiden entstehenden Felder im Bereich der sich überschneidenden Rundspulen zu einer monophasischen Welle auf (Mills et al. 1992). Mithilfe dieses maximalen Feldes (parallel zum Draht) direkt unterhalb des Zentrums der Spule kann wesentlich stärker und fokaler stimuliert werden (Cohen et al. 1990, Rösler et al. 1989).

Für alle Spulen ist die Richtung des induzierten Stroms über dem Motorkortex der

entscheidendste Stimulationsparameter. Ein sagitaler Strom in anteriorer Richtung oder koronar in Richtung der zu stimulierenden Hemisphäre ist optimal (Rösler et al. 1989). Um für die Stimulation das optimale Ergebnis zu erreichen, ist ein Spulenwinkel von etwa 50° zur parasagitalen Achse des Schädels mit nach posterior gerichtetem Stromfluss notwendig (Mills et al. 1992). Durch diese Lage entsteht ein von posterior nach anterior verlaufender Stromfluss senkrecht zum zentralen Sulcus, wodurch bevorzugt die horizontal ausgerichteten Nervenfasern erregt werden (Mills et al. 1992).

1.4 Sicherheitsaspekte der TMS

Die transkranielle Magnetstimulation wird nun bereits seit über 30 Jahren genutzt. Seither hat sie sich als praktikable Untersuchungsmethode in der menschlichen Neurophysiologie, Kognitionswissenschaft und Psychiatrie etabliert. Neue Stimulationsparadigmen wurden entwickelt (z.B. repetitive Stimulation), technische Fortschritte führten zu neuen Gerätedesigns und die TMS wurde mit anderen diagnostischen Verfahren kombiniert (EEG, PET und funktionelles MRT) (Rossi et al. 2009). Deshalb wird wiederholt die Sicherheit kritisch hinterfragt.

Bereits vor 20 Jahren wurde unter Berücksichtigung gewisser Ausschlusskriterien die TMS als sichere nicht-invasive Untersuchungstechnik angesehen (Chokroverty et al. 1995, Anand et al. 2002). Als Gefahrenquellen haben sich implantierte elektronische Geräte erwiesen. Bereits 1983 berichteten Pavlicek et al., dass das sich rasch ändernde Magnetfeld zu kurzfristigen Funktionsstörungen führen oder im Extremfall die Zerstörung des Gerätes verursachen könne. Es gibt bis heute keine Sicherheitsdaten für TMS bei Probanden mit Cochlea-Implantaten. Auch heute noch gelten Metallimplantate in unmittelbarer Nähe zum Stimulationsort (z.B. Cochlea-Implantate, Interner Pulsgenerator oder Medikamentenpumpen) als absolute Kontraindikation, da die Gefahr von Fehlfunktionen oder komplettem Funktionsausfall besteht (Rossi et al. 2009).

Bei Implantaten, die Abstand zur TMS-Spule haben, sollten Untersuchungen nur nach sorgfältiger Risiko-Nutzen-Abwägung erfolgen, da keine eindeutigen Daten über einen ausreichenden Abstand vorliegen. Bei Probanden mit VNS-Systemen, Herzschrittmachern und Rückenmarkstimulatoren gilt die TMS als sicher, sofern sie nicht in der Nähe der Implantate im Nacken oder Thorax aktiviert wird. (Rossi et al. 2009). Ein neuerer Fallbericht bezogen auf eine therapierefraktäre Migräne bestätigt,

dass unter sorgfältiger Risiko-Nutzen-Abwägung die TMS-Stimulation auch bei liegendem Schrittmacher komplikationsfrei angewendet werden kann (Wei et al. 2018). Die größte Angst besteht vor dem Auslösen epileptischer Anfälle. Von Anfang an wurden vereinzelte Fälle berichtet, vor allem traten die Anfälle bei Patienten mit epileptischem Potential (therapierefraktäre Epilepsiepatienten, Patienten nach erlittenem Stroke) auf (Classen et al. 1995, Hufnagel et al. 1990, Fauth et al. 1992, Hömberg et al. 1989). Anhand einer aktuellen umfangreichen Umfrage (2012 - 2016) hinsichtlich des Auftretens epileptischer Anfälle in Verbindung mit rund 300.000 TMS-Messungen bei gesunden Probanden und Patienten wurde dieses Thema nochmals ausführlich durch Lerner et al. aufgearbeitet. Sofern TMS gemäß den Richtlinien verwendet wurde, trat bei Probanden ohne Risikofaktoren weniger als ein Anfall pro 60.000 Sitzungen auf. Die Mehrheit der TMS-bezogenen Anfälle traten, wie bereits in den ersten Studien beschrieben, bei Personen mit Risikofaktoren (angeborene Epilepsien, anatomische Läsionen, Alkoholismus, Medikamente) auf (Lerner et al. 2019). Eine Studie, die sich mit dem Thema repetitiver transkranieller Magnetstimulation als Therapieoption bei Depression beschäftigt, hat kongruent mit der bisherigen Datenlage in ihrem Patientenkollektiv keine epileptischen Anfälle oder Synkopen beobachtet (Miron et al. 2019).

1.5 TMS-Parameter

1.5.1 Motorische Schwellen

Die motorischen Schwellen (MT, “motor threshold”) stellen einen grundlegenden Parameter bei der Bestimmung der kortikalen Erregbarkeit dar. Sie können entweder am ruhenden Muskel (RMT, “resting motor threshold”) oder bei leichter willkürlicher Aktivierung von ca. 30% der maximalen Kraft (AMT, “activated motor threshold”) ermittelt werden. Die Schwellenwerte sind definiert als die minimale Stimulusintensität, die benötigt wird um in 50% der Fälle eine gerade noch nachweisbare motorische Antwort (meist $> 0,5\mu\text{V}$) im Zielmuskel zu erzielen (Rossini et al. 1999). Beim Vergleich der beiden Schwellenarten ist die Schwelle der AMT um 10% des maximalen Stimulator-outputs niedriger als bei der RMT (Devanne et al. 1997). Ursächlich hierfür sind sowohl spinale als auch supraspinale Mechanismen (Hess et al. 1986). Eine

Vorinnervation führt zu einer erhöhten Erregbarkeit kortikospinaler Neurone (Datta et al. 1989) und zu einer Zunahme der Anzahl und Größe von I-Wellen (DiLazzaro et al. 1998). Hieraus ergibt sich die im Vergleich zur RMT erhöhte Amplitude des motorisch evozierten Potentials (MEP) sowie die niedrigere Schwelle (Claus et al. 1988, Hess et al. 1987). Im Vergleich zur elektrischen Stimulation steigt die MEP-Amplitude nicht linear zur Kontraktionsstärke des Zielmuskels, sondern erreicht schon bei ca. 10 % der möglichen Kontraktionsfähigkeit das Maximum (Hess et al. 1988).

Motorische Schwellen spiegeln vermutlich Prozesse an kortiko-kortikalen Axonen und ihren exzitatorischen synaptischen Verbindungen mit den kortikospinalen Neuronen wider. Aus neuropharmakologischen Studien geht hervor, dass spannungsabhängige Natriumkanäle an der Ausbildung der motorischen Schwellen beteiligt sind, da durch ihre Blockade ein Anstieg der Schwellen hervorgerufen werden konnte (Borojerdj et al. 2001, Ziemann et al. 1996).

Zur Ableitung erwiesen sich die intrinsischen Handmuskeln am effektivsten, da hier die niedrigsten Schwellen bestehen (Wassermann et al. 1992).

Charakteristisch für motorische Schwellen ist zwar eine hohe inter-individuelle Variabilität, aber sie zeigen im Gegensatz dazu eine stabile intra-individuelle Variabilität, sodass sie sich gut als Messwert für Longitudinalstudien eignen (Borojerdj et al. 2000).

1.5.2 Intrakortikale Inhibition und intrakortikale Fazilitierung

Intrakortikale Inhibition und intrakortikale Fazilitierung können durch die Methode der Doppelstimulation ("paired-pulse protocol") erzeugt werden (Kujirai et al. 1993). Bei dieser Technik werden zwei magnetische Stimuli in einer vordefinierten Sequenz an der gleichen Stelle durch die gleiche Spule abgegeben. Der erste, konditionierende Stimulus (CS) modifiziert die Reaktion auf den zweiten, den Test-Stimulus (TS). Der Effekt der Doppelstimulation ist von der Intensität des CS, dem Inter-Stimulus-Intervall (ISI) und der Intensität des TS abhängig. Im "konventionellen" PP-Paradigma wird ein unterschwelliger CS, gefolgt von einem überschwelligen TS, bei einem Inter-Stimulus-Intervall von 1-20ms appliziert (Ziemann et al. 1999). Intrakortikale Inhibition (SICI, bei ISIs von 1-4ms) und intrakortikale Fazilitierung (ICF, bei ISIs von 8-12ms) ergeben sich aus der Aktivierung verschiedener Erregungskreisläufe (Ziemann et al. 1999).

Es wird angenommen, dass der unterschwellige CS durch die Aktivierung von niedrig-

schwelligen kortikalen inhibitorischen Kreisläufen ein inhibitorisches post-synaptisches Potential (IPSP) an kortikospinalen Neuronen produziert. Diese wieder herum hemmen die Ausbildung der vom überschwelligen, zweiten Stimulus generierten exzitatorischen post-synaptischen Potentiale (ESPSs) (Kujirai et al. 1993). Dementsprechend konnten experimentelle GABA-A Agonisten die kurze intrakortikale Inhibition (SICI, “short intracortical inhibition”) steigern (DiLazzaro et al. 2000, Ilic et al. 2002, Ziemann et al. 1996a). Gegen diese Annahme spricht, dass GABA Re-uptake Inhibitoren SICI reduzieren (Werhahn et al. 1999). Werhahn et al. (1999) führten diesen Effekt auf die Aktivierung von präsynaptischen GABA-B Auto-Rezeptoren am Nervenende von GABA-ergen inhibitorischen Interneuronen, mit daraus resultierender Auto-Inhibition, zurück.

Verglichen mit der intrakortikalen Inhibition wird die intrakortikale Fazilitierung sowohl durch den N-methyl-D-aspartase (NMDA)-Rezeptor (Ziemann et al. 2003) als auch GABA-A-Aktivität (Ziemann et al. 1996a) beeinflusst.

In klinischen Untersuchungen konnten Veränderungen der SICI bei Patienten mit Schizophrenie beobachtet werden (Du et al. 2018). Dabei zeigten Schizophreniepatienten deutlich verkürzte SICI im Vergleich zu Gesunden (Lindberg et al. 2016).

1.5.3 Cortical Silent Period

Die Cortical Silent Period (CSP) ist eine durch TMS induzierte Unterbrechung der willkürlichen Aktivität im EMG des Zielmuskels. Die Dauer kann in fast linearer Korrelation mit der Stimulationsintensität gesteigert werden (Inghilleri et al. 1993, Kukowski und Haug 1992), bis zu 200-300ms können in den Handmuskeln erreicht werden (Cantello et al. 1992). Das Ausmaß der willkürlichen Vorinnervation des Zielmuskels zeigt dagegen keinen Einfluss (Inghilleri et al. 1993, Kukowski und Haug 1992, Säisänen et al. 2008). Für die Generierung sind verschiedene Mechanismen verantwortlich. An der frühen Phase (bis 50ms) sind spinale Mechanismen wie z.B. After-Hyperpolarisation und wiederkehrende Inhibition des spinalen Motoneurons beteiligt, wohingegen die späte Phase (nach 50ms) durch supraspinale, hauptsächlich kortikale inhibitorische, Mechanismen entsteht (Fuhr et al. 1991, Inghilleri et al. 1993). Versuche mit GABA Re-uptake Inhibitoren belegen, dass zur Generierung der späten Phase lang anhaltende durch GABA-B Rezeptoren vermittelte kortikale Inhibitionen

beteiligt sind (Werhahn et al. 1999).

Die CSP-Dauer wird experimentell zur Beurteilung der Neurophysiologie, aber auch klinisch zur Untersuchung der Pathophysiologie einer Vielzahl neurologischer Erkrankungen wie Morbus Parkinson (Cantello et al. 2007), bipolare Störungen (Levinson et al. 2007), Schlaganfall (Takeuchi et al. 2007), Migränekopfschmerzen (Curra et al. 2007), Epilepsie (Kim et al. 2008) und Multiple Sklerose (Tataroglu et al. 2003) genutzt (Damron et al. 2008). Trotz der weit verbreiteten wissenschaftlichen Erfahrung mit der CSP und ihrer klinischen Verwendung gibt es große Unterschiede in der Bestimmung und Auswertung. Zur Frage der effektiven Stimulusintensität zeigten sich bei höheren Intensitäten mit 30% über der AMT stabilere CSP-Werte (Damron et al. 2008).

Eine weitere Frage stellt ist die Bestimmung des Anfangs- und Endpunktes. Vor allem der Startpunkt wird in der Literatur unterschiedlich definiert. Einige Autoren sehen den Beginn der CSP mit Beginn des MEP (Kim et al. 2008, Liepert et al. 2000), Andere am Ende des MEP (Curra et al. 2007, Tataroglu et al. 2003), oder gar zum Zeitpunkt der TMS-Stimulusabgabe (Cantello et al. 2007, Khedr et al. 2007).

Die meisten Autoren verwenden eine visuelle Analyse, während einige auch automatisierte computergestützte Auswertemethoden entwickelt haben (Nilsson et al. 1997, Garvey et al. 2001, Daskalakis et al. 2003, King et al. 2006, Julkunen et al. 2013). Trotz guter Ergebnisse konnte sich bisher kein Programm deutlich etablieren.

2 Re-Test-Reliabilität

2.1 Einführung

Der Begriff der Reliabilität stammt aus dem Bereich der Psychologie und bezieht sich auf den Grad der Genauigkeit, mit der durch ein psychologisches Verfahren ein bestimmtes Merkmal gemessen wird. Dieser Sachverhalt kann ebenfalls auf andere Testverfahren angewendet werden.

Die Re-Test-Reliabilität bezeichnet den Grad der Übereinstimmung von Testergebnissen bei denselben Probanden und mit demselben Test bei mehreren Testungen. Voraussetzung dafür ist, dass das zu messende „Merkmal“ stabil ist.

In den letzten 30 Jahren wurden zahlreiche TMS-Studien durchgeführt, die die Beeinflussung der zerebralen Erregbarkeit durch unterschiedliche Bedingungen oder Interventionen untersuchen. Um sicherzustellen, dass die TMS tatsächlich zur Beurteilung von Veränderungen dienen kann, ist es zunächst essentiell, die normale Variabilität sowie die Verlässlichkeit dieses diagnostischen Verfahrens an gesunden Probanden zu verstehen (Mills und Nithi 1997, Kimiskidis et al. 2004, Malcolm et al. 2006). Bisher konnte dabei wiederholt gezeigt werden, dass die TMS im Allgemeinen sehr zuverlässig ist.

Die meisten Studien bezüglich der Re-Test-Reliabilität beziehen sich auf distale Muskeln der oberen Extremität, hier im Speziellen die Handmuskeln (Carroll et al. 2001, Malcolm et al. 2006, Livingston et al. 2008). Distale Muskeln sind hierfür aufgrund ihrer kortikalen Repräsentation und wesentlichen kortikospinalen Projektionen geeignet (Malcolm et al. 2006). Nur wenige untersuchten die unteren Extremitäten wie z.B. Tibialis anterior oder Soleusmuskel (Cacchio et al. 2009, Peri et al. 2017, Gray et al. 2017). Ursächlich hierfür erscheint die nur mäßige Zuverlässigkeit der MEP im Muskel der unteren Extremität (Cacchio et al. 2009).

Seltener wurden proximale Muskeln untersucht. Van Kuijk und Kollegen (2009) untersuchten speziell Unterschiede bei TMS-Messungen zwischen einem proximalen Muskel (M. biceps brachii) und einem distalen Handmuskel (M. abductor digiti minimi). Sie kamen zu dem Ergebnis, dass die kortikospinale Physiologie des proximalen Muskels verglichen zum distalen Muskel eine hohe interindividuelle Variabilität aufweist.

Die Reproduzierbarkeit der TMS-Messungen muss hinsichtlich der verschiedenen Messparameter separat betrachtet werden. Hierfür sind die motorischen Schwellen die am besten untersucht und stabilsten TMS-Parameter. Im Vergleich mit dem MEP Umfang bleiben die motorische Schwellen (MTs) über die Zeit gemessen unverändert und zeigen eine hohe Re-Test-Reliabilität (Mortifee et al. 1994, Traversa et al. 1998, Maeda et al. 2002, Wolf et al. 2004, Cacchio et al. 2009, Ngomo et al. 2012). Des Weiteren sind sie auch am wenigsten fehleranfällig (Peri et al. 2017). Die Studienlage ist hierzu kongruent für Messungen an der oberen und unteren Extremität.

Der Intra-Subjekt-Variationskoeffizient beträgt im Durchschnitt 5%, mit einer leicht besseren Korrelation für die linke Hemisphäre (Koski et al. 2005). Diese Ergebnisse scheinen unabhängig vom Probandenalter, der Höhe der Schwellen oder dem Test-Retest-Intervall zu sein (Kimiskidis et al. 2004).

Als einer der ersten untersuchte Boroojerdi et al. (2000) die verschiedenen Einflüsse von "Subjekt", "Session", und "Untersucher" auf der Reproduzierbarkeit von intrakortikaler Inhibition und Fazilitierung. Bei einer sehr geringen Probandenanzahl von vier Personen mit drei verschiedenen Sessions konnte neben der vorbekannten starken Inter-Subjekt-Variabilität eine hohe Inter-Session- und Inter-Untersucher-Variabilität aufgezeigt werden. Als mögliche Ursachen für dieses Ergebnis wurden Unterschiede in der RMT-Bestimmung, Spulenposition und Test-MEP-Amplituden angegeben. Ebenso konnte hervorgehoben werden, dass die Anzahl der gemessenen MEPs einen Einfluss auf die Inter-Session-Variabilität hat. Eine Möglichkeit zur Reduzierung dieser Variabilität ist daher eine erhöhte Anzahl der gemessenen MEPs (trials per ISI) sowie der Sessions.

Während Bastani und Jaberzadeh 2012 in ihrem Versuchsablauf mit 5, 10 und 15 trials die höchste Reliabilität bei 10 und 15 trials beobachteten, seien laut Goldsworthy et al. (2016) etwa 20-30 trials notwendig um eine stabile MEP-Amplitude mit hoher intra- und inter-session Reliabilität zu erreichen. Mehr als 30 trials brachten hingegen keine weitere Verbesserung. Im Review von Cavaleri et al. (2017), deren Ergebnisse allerdings nur auf 4 sehr heterogenen Studien beruhen, kam man zu dem Schluss, dass für eine ausgezeichnete intra-session Reliabilität der MEPs 5 trials und für eine konstante inter-session MEP-Amplitude bei gesunden Probanden 10 trials notwendig seien.

Andererseits ist man versucht durch Verkürzung der gesamten Untersuchungszeit die Variabilität zu minimieren. Zusätzlich kann so die Umsetzung von TMS-bezogenen Therapien in die klinische Praxis erleichtert werden. Somit kann sowohl die Variabilität gesenkt als auch die Compliance der Patienten gesteigert werden, mit folglich niedrigeren Ausfallraten (Peri et al. 2017).

Im Vergleich zu den motorischen Schwellen zeigt sich, dass die Reproduzierbarkeit intrakortikaler Inhibition und Fazilitierung problematisch ist. Nur wenige Studien haben bisher diese Parameter untersucht (Boroojerdi et al., 2000; Maeda et al., 2002; Orth et al., 2003, Sankarasubramanian et al. 2015, Schambra et al. 2015, Fried et al. 2017) und zum Teil unterschiedliche Ergebnisse erhalten. Insgesamt werden schlechte Re-Test-Reliabilitäten für diese Parameter angegeben. Maeda et al. (2002) beschreiben diesbezüglich, dass die Ergebnisse bei kurzen ISIs (SICI) im Vergleich zu den langen

ISIs (ICF) besser reproduzierbar seien und belegen dies mit Korrelationen von 0.76 für SICI und 0.40 für ICF. Weiter komplizierend werden hohe Inter-subjekt-Variabilitäten beschrieben. Vor allem die SICI werden dabei mit 45-67% und die ICF dagegen geringer mit 21- 23% angegeben (Boroojerdi et al. 2000, Orth et al. 2003).

Die Cortical Silent Period zeigt ebenfalls eine gute Re-Test-Reliabilität (Kimberley et al. 2009, Tallent et al. 2012, Peri et al. 2017) und mit einer Spannbreite von 44-258ms eine sehr hohe Inter-Subjekt-Variabilität (Fritz et al. 1997).

Beim Vergleich der intra-individuellen Re-Test-Reliabilität in Abhängigkeit vom Untersucher bildete Fritz et al. (1997) zwei verschiedene Gruppen. In einer wurden alle drei Sitzungen durch den gleichen Untersucher vorgenommen und in der zweiten wurden alle Probanden jeweils einmal durch drei verschiedene Untersucher gemessen. Die Autoren beschrieben konstante Ergebnisse mit einer hohen Reliabilität bei Messungen durch den gleichen Untersucher und eine befriedigende Reliabilität durch verschiedene Untersucher.

2.2 Einflussfaktoren

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass die Untersuchung der kortikalen Erregbarkeit mittels TMS durch eine Reihe äußerer Faktoren beeinflusst werden kann. Nur durch Kontrolle mit weitgehender Ausschaltung dieser Faktoren oder Herstellung gleicher Bedingungen ist eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten.

Neben dem Spulentyp und Positionierung hat ebenfalls die Distanz zwischen Spule und zu stimulierender Gehirnregion Einfluss auf die MT-Werte. Studien zeigen, dass eine Zunahme der motorischen Schwelle mit zunehmendem Abstand zwischen Schädelkalotte und Kortex (Stokes et al. 2007) und zwischen Spule und Schädelkalotte (Julkunen et al. 2009) erfolgt. Ursache dieses Phänomens ist, dass die Magnetfeldstärke mit zunehmender Entfernung ihres Ursprungs abnimmt. Außerdem beeinflusst der Neigungswinkel der Spule die Stimulationstiefe. Jeder Muskel hat eine optimale Stimulationsstelle („hot spot“), an der das MEP mit der größtmöglichen Amplitude hervorgerufen werden kann (Säisänen et al. 2008). Dementsprechend reduziert eine Spulenbewegung zu einer nicht optimalen Position während der MT-Bestimmung die

Wahrscheinlichkeit MEPs hervorzurufen oder verursacht MEPs mit niedrigerer Amplitude (Gugino et al. 2001). Da die MT anhand des induzierten MEPs bestimmt wird, kann eine Verschiebung der Spule während der Messung zu einer Beeinflussung des MT-Wertes führen.

Ein lautes Geräusch 30-60ms vor Abgabe des magnetischen Stimulus unterdrückt die EMG-Reaktion mit einer maximalen Suppression bei einer Lautstärke >80dB und einer Dauer >50ms. Solche Effekte zeigen sich nur, wenn die Inter-Trial-Intervalle >20sek sind. Durch ein vorangehendes Klickgeräusch kann die durch laute Geräusche hervorgerufene Unterdrückung reduziert und durch kurze Inter-Trial-Intervalle von 5sek komplett ausgeschaltet werden (Furubayashi et al. 2000). Die Schwankungen in der Aufmerksamkeit während der Untersuchung stellen einen weiteren wichtigen Einflussfaktor dar (Ellaway et al. 1998, Funase et al. 1999).

Aufgrund der relativ schmerzarmen Untersuchungsmöglichkeit der TMS wird diese gut toleriert und ist für einige Probanden eher langweilig. Diese Problematik ist vor allem besonders stark während der zweiten (retest-)Sitzung ausgeprägt, da nun eine gewisse Vertrautheit mit der Untersuchungsmethode besteht und somit nicht das gleiche Maß an Aufmerksamkeit garantiert werden kann. Untersuchungen zur Wirksamkeit von PAS („paired-associative stimulation“), einer Kombination aus niedrig-frequenter perkutaner elektrischer Stimulation eines peripheren Nerven zusammen mit TMS des kontralateralen Motorkortex, die eine etwa 30 Minuten anhaltende Steigerung der kortikalen Erregbarkeit verursacht (Stefan et al. 2000), zeigten, dass eine Zunahme der PAS-induzierten Änderungen hervorgerufen werden kann, indem man die Probanden bittet ihre Aufmerksamkeit auf die stimulierte Hand zu richten (Stefan et al. 2004) oder auf die stimulierte Hand zu richten und zusätzlich die peripheren elektrischen Stimuli zu zählen (Rosenkranz et al. 2006). Ähnliche Effekte mit verstärkter Fazilitierung, durch mentale Prozessen wie z.B. Rechnen hervorgerufen, konnten ebenfalls dargestellt werden (Rossi et al. 1998). Neuere Studien zeigen, dass Aufmerksamkeitsprozesse zusätzlich zu denen, die durch Fokussierung auf den stimulierten Körperteil (Stefan et al. 2004) ausgelöst werden, die Erregbarkeit beeinflussen können (Kamke et al. 2012).

Äußere Faktoren wie Alter und körperliche Aktivität haben unterschiedliche Auswirkungen auf die Muskeln der oberen und unteren Extremität. So konnte gezeigt werden, dass die kortikale Erregbarkeit der Handmuskulatur mit zunehmendem Alter abnimmt und unabhängig von regelmäßiger körperlicher Aktivität (Schritte/Tag) ist. Im

Gegensatz dazu wurde für die untere Extremität (M. vastus lateralis) keine Beeinflussung durch das Alter, aber durch die körperliche Aktivität beschrieben (Rozand et al. 2019).

Um die Re-Test-Reliabilität zuverlässig einschätzen zu können, ist es wichtig, die natürlichen Schwankungen der TMS-Werte während des Tages zu berücksichtigen. Bei Beeinflussung durch die Tageszeit, sollten geplante Folgemessungen ungefähr zur gleichen Zeit am Morgen oder Nachmittag durchgeführt werden. Die Studienlage hierzu ist jedoch nicht ganz eindeutig. Mehrere Studien, die tagsüber vorgenommen wurden, konnten für die RMT, SICI und ICF keine Unterschiede zwischen Messungen am Vormittag oder Nachmittag feststellen. (Doeltgen et al. 2010, Lang et al. 2011, Ter Braack et al. 2019). Mehrfachmessungen über 24 Stunden beobachteten nach Schlafentzug eine reduzierte kortikale Erregbarkeit. Es zeigten sich eine Steigerung der RMT, SICI und CSP in der Nacht mit anschließender Normalisierung am Morgen (Manganotti et al. 2001). Strutton et al. (2003) sahen dagegen keine Beeinflussung in ihren Messungen über 24 Stunden hinweg. Andere Autoren fanden heraus, dass bestimmte GABA-vermittelte intrakortikale Hemmungen wie bei der CSP im Laufe des Tages zunehmend abnahmen. Zusätzliche Experimente zeigten, dass die morgendliche Hemmung unabhängig vom vorherigen Schlaf oder Schlafentzug anhielt (Lang et al. 2011). Dementgegen stehen die Ergebnissen von Kreuzer et al. (2011), die nach Schlafentzug eine Reduktion der SICI beobachteten, wohingegen RMT, ICF und CSP unbeeinflusst blieben.

Zyklusabhängige Hormonschwankungen können ebenfalls die kortikale Erregbarkeit und somit die mittels TMS gemessenen Parameter beeinflussen. Diesbezüglich beschrieb Smith et al. (1999) eine stärkere Inhibition während der Lutealsphase im Vergleich zur folliculären Phase. Jedoch misslang es ihm diese Ergebnisse im Rahmen einer weiteren Studie zu bestätigen (Smith et al. 2002). Hattemer et al. (2007) beobachtete im Gegensatz dazu eine verstärkte Inhibition während der Menstruation. Dieser hormonabhängige Effekt konnte interessanterweise bei ovulatorischen und anovulatorischen Zyklen nicht gleichermaßen beobachtet werden, da ovulatorische Zyklen keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Zyklusphasen zeigten (Hattemer et al. 2007). Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass der Menstruationszyklus als potentieller Confounder für Studien mit TMS berücksichtigt

werden sollte.

Die motorischen Schwellen können für den ruhenden Muskel oder bei leichter willkürlicher Aktivierung bestimmt werden. Aufgrund der bereits erwähnten niedrigeren Schwelle bei Vorinnervation muss zum Vergleich der RMT-Werte eine aktive Vorstimulus-Muskelanspannung ausgeschaltet werden. Durch eine visuelle und auditorische Inspektion des EMGs kann eine solche Muskelkontraktion kontrolliert werden.

3 Fragestellung

Ziel dieser Studie ist es, die Re-Test-Reliabilität unterschiedlicher TMS-Parameter zu untersuchen, um ihren Nutzen für longitudinale Studien beurteilen zu können. Dabei sollen die folgenden potentiellen Einflussfaktoren untersucht werden.

Unterschiedliche Verfahren zur Bestimmung der CSP:

Häufig werden verschiedene Definitionen zur Bestimmung der CSP angewendet. In letzter Zeit wurden automatisierte computergestützte Auswertemethoden vorgestellt, um die Variabilität in der Auswertung zu reduzieren (Nilsson et al. 1997, Garvey et al. 2001, Daskalakis et al. 2003, King et al. 2006, Julkunen et al. 2013). Im Rahmen dieser Arbeit sollen zwei verschiedene Auswertemethoden miteinander verglichen werden.

Unsere automatisierte Auswertemethode basiert noch auf der von Garvey et al. (2001) beschriebenen. Es soll gezeigt werden, ob eine automatisierte Methode Vorteile gegenüber der manuellen visuellen Methode durch die jeweiligen Untersucher hat. Bei Bestätigung dieser These ließen sich zukünftige Studien durch den Einsatz standardisierter Auswertemethoden mit gleichen Definitionen besser miteinander vergleichen.

Untersucherabhängigkeit und Übungseffekt:

Bei großen Probandenkollektiven ist es häufig aus organisatorischen Gründen nicht möglich, dass alle Probanden durch den gleichen Untersucher gemessen werden. In

dieser Studie werden die Re-Test-Reliabilitäten für verschiedene Untersucher angegeben und miteinander verglichen. Desweiteren soll untersucht werden, ob die Erfahrung der Untersucher einen Einfluss auf ihre Ergebnisse hat, da die Erfahrung und das Können des Untersuchers relevante Auswirkungen auf die Qualität der Messung zu haben scheint (Cacchio et al. 2009).

Geschlecht der Probanden:

Bei Frauen beeinflusst der Menstruationszyklus die kortikale Erregbarkeit (Cahn 2003, Hattemer 2007, Smith 1999). Zum einen führt diese Eigenschaft zu einer schlechteren Rekrutierung von Frauen für TMS-Studien, zum anderen ist aufgrund dieser Eigenschaft die Phase des Menstruationszyklus während der Messung entscheidend und nur einzelne Studien (Siniatchkin et al. 2011, Petitjean et al. 2013) gaben diese bisher zusätzlich an.

SCN1A-Genpolymorphismus:

Es gibt Hinweise, dass genetische Faktoren, insbesondere Polymorphismen im SCN1A Gen, die kortikale Erregbarkeit beeinflussen, daher wurde beispielhaft die Re-Test-Reliabilität für unterschiedliche Genotypen des Polymorphismus rs3812718 des SCN1A Gens untersucht.

Re-Test-Intervall:

Vorangegangene Studien untersuchten häufig die Reproduzierbarkeit innerhalb weniger Stunden oder Tage (Koski et al. 2005, Sale et al. 2007, Varnava et al. 2011). In der vorliegenden Arbeit wird der Einfluss auch längerer Intervalle zwischen den einzelnen Sessions untersucht.

TEIL II - METHODEN

Die Daten der folgenden Studie wurden im Rahmen des Epicure Projektes erhoben, in dem der Einfluss eines Polymorphismus im *SCN1A*-Gen (IVS5N+5 G -> A; dbSNP: rs3812718) auf die kortikale Erregbarkeit untersucht wurde.

1 Hintergrund der Datengewinnung

Die für zerebrale Natriumkanäle kodierenden Gene sind entscheidend an der genetischen Disposition für Epilepsien beteiligt. Von den in den zerebralen Neuronen exprimierten Natriumkanälen wurden vor allem im *SCN1A*-Gen Mutationen identifiziert, die mit Epilepsien assoziiert sind. So wurden Gensequenzen identifiziert, die ursächlich an der Entstehung einer “Schweren myoklonischen Epilepsie des Kindesalters” (SMEI) / “Dravet-Syndrom” (Claes et al. 2001, Claes et al. 2003) und “Genetische Epilepsie mit Fieberkrämpfen plus” (GEFS+) verantwortlich sind (Escayg et al. 2000, Escayg et al. 2001, Sugawara et al. 2001). Für den Polymorphismus rs3812718 wird ein direkter Einfluss auf die kortikale Erregbarkeit angegeben. Hinsichtlich klinischer Erscheinungen berichtet Schlachter et al. (2009) von einer Assoziation mit Fieberkrämpfen.

Neben der Tatsache, dass Natriumkanäle an der Entstehung von Epilepsien ursächlich mit entscheidend sind, stellen sie einen wichtigen Faktor bei der Wirkung von anti-konvulsiven Medikamenten dar. Für Carbamazepin und Phenytoin, die ihre Wirkung über die Inhibition der Natriumkanäle erzielen, wird ein zusätzlicher Zusammenhang mit dem bereits erwähnten Polymorphismus angenommen (Tate et al. 2005, Tate et al. 2006).

Zur Untersuchung des Einflusses des Polymorphismus rs3812718 auf die kortikale Erregbarkeit wurden bei einer großen Anzahl von Probanden während 2 Sessions TMS Messungen durchgeführt, so dass die Daten sich gut zur Untersuchung der Re-Test-Reliabilität eignen.

2 Studiendesign

Im Rahmen des Epicure-Projektes wurde im Epilepsiezentrum des Universitätsklinikums der Philipps-Universität Marburg eine monozentrische, prospektive, placebokontrollierte, doppelblinde, randomisierte cross-over Studie durchgeführt, in der Veränderungen der kortikalen Erregbarkeit bei gesunden Probanden mit unterschiedlichem Genotypen eines Polymorphismus im SCN1A-Gen während zwei Sessions jeweils vor (Baseline) und nach Gabe von 400mg CBZ oder Placebo untersucht wurden. Die gesunden Probanden wurden innerhalb des Versorgungsgebietes des Universitätsklinikums der Philipps-Universität Marburg rekrutiert. Die Rekrutierung gesunder rechtshändiger männlicher und weiblicher Probanden im Alter von ≥ 18 Jahren und ≤ 60 Jahre erfolgte mittels Aushängen, Zeitungsanzeigen und über eine elektronische Studentenplattform (K-med). Alle Probanden waren europäischer Abstammung und $>95\%$ waren Studenten an der Philipps Universität Marburg. Der Zeitraum des Studienablaufes inkl. Probandenanwerben, Probandenscreening und Versuchsdurchführung erstreckte sich von 2009-2011.

2.1 Probanden

2.1.1 Einschlusskriterien

- Alter ≥ 18 Jahre und ≤ 60 Jahre
- Gesunder Rechtshänder (Edinburgh Handedness Inventory, EHI ≥ 80)
- Schriftliche Einwilligung zur Teilnahme an der Studie
- Kognitive und physische Fähigkeit des Probanden, den Versuchsablauf zu verstehen und einzuhalten, das verabreichte Medikament einzunehmen und sich mit TMS untersuchen zu lassen
- Empfängnisverhütung mit Pearl-Index $<1\%$ bei Frauen im gebärfähigen Alter (Frauen ab 18 Jahren, deren letzte Menstruation nicht länger als 1 Jahr zurückliegt)
 - orales Kontrazeptivum und Intrauterinpessar/Spirale (mindestens einen Monat vor Studienbeginn) oder

- orales Kontrazeptivum und Barriere mit Spermizid (Kondom oder Diaphragma) oder
- orales Kontrazeptivum und Tubenligatur

2.1.2 Ausschlusskriterien

- Schwere symptomatische progressive neurologische Erkrankung (z. B. schnell fortschreitende Hirnpathologie)
- Schwere (eine Krankenhauseinweisung erforderlich machende) psychiatrische Erkrankung in den letzten sechs Monaten oder Suizidversuch in der Anamnese, zugrundeliegende Psychose oder bekannte Verhaltensauffälligkeiten
- Schwere symptomatische Lebererkrankung (z. B. Hepatitis, Leberzirrhose), akute intermittierende Porphyrrie
- Schwere symptomatische Nierenerkrankungen (z.B. terminale Niereninsuffizienz)
- Schwere symptomatische Herz-Kreislauf-Erkrankung (z.B. AV-Block, Z.n. Myokardinfarkt)
- Schwere symptomatische endokrinologische Erkrankung
- Myotone Dystrophie
- Störungen des Natriumhaushaltes
- Krebsleiden
- Hämatologische Erkrankungen und Knochenmarkschädigung
- Glaukom
- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Vorliegen einer Epilepsie
- Nicht-epileptische Anfälle
- Chronischer Alkohol- oder Drogenmissbrauch in den letzten zwei Jahren
- Bekannte Überempfindlichkeit gegen die Medikation oder deren Trägerstoffe
- Antiepileptische oder andere zentralnervös wirksame Dauermedikation zum Zeitpunkt der Untersuchung
- Einnahme von Voraconizol (Behandlung von schweren Pilzinfektionen) zum Zeitpunkt der Studienteilnahme

- Metallhaltige Implantate im Kopf-Hals-Thorax-Bereich (z.B. Metallsplitter, intrakranielle Clips, Herzschrittmacher)
- Andere klinisch signifikante Auffälligkeiten, belegt durch Laborwerte, medizinische Anamnese oder körperliche Untersuchung, die sich nach Ansicht des Untersuchers nachteilig auf die Studie oder den Probanden auswirken könnten
- Teilnahme an anderen klinischen bzw. neurophysiologischen Untersuchungen oder Studien (anamnestisch, Unterschrift in der Einwilligungserklärung)

2.2 Datenschutz, Aufklärung und Einverständniserklärung

Zur Dokumentation wurde jedem Probanden ab dem ersten Kontakt beim Screening eine Identifikationsnummer zugeteilt. Alle ab diesem Zeitpunkt erstellten studienbezogenen Aufzeichnungen der Probandendaten sowie die Analyse der Blutproben, fand unter Kennzeichnung der Probandenidentifikationsnummer statt. Hierdurch blieb die Identität der einzelnen Probanden pseudonymisiert, sodass nur mithilfe einer beim Studienleiter verschlossenen Schlüsselliste personenbezogenen Daten den Probanden zugeordnet werden konnten.

Zum Zeitpunkt des Screenings wurde den Probanden in einem ausführlichen Gespräch und zusätzlich bereits im Vorfeld auf elektronische Weise per E-Mail die Probandeninformation ausgehändigt. Sie wurden darin über Ziele, Untersuchungsmethoden, Studienmedikation, Versuchsablauf, Probandenversicherung und Risiken aufgeklärt. Nach schriftlicher Einwilligung wurden die entsprechenden Ein- und Ausschlusskriterien sowie die Rechtshändigkeit mit Hilfe des Edinburgh-Händigkeits-Fragebogen überprüft und eine körperliche Untersuchung und die Blutentnahme zur Genotypisierung hinsichtlich des SCN1A-Polymorphismus vorgenommen. Jeder Proband wurde ausführlich über die Speicherung personenbezogener Daten gemäß dem Hessischen Datenschutz und der Möglichkeit die Studie zu jedem Zeitpunkt ohne Angabe von Gründen abbrechen zu können informiert. Als Aufwandsentschädigungen erhielten die Prüfpersonen 10 Euro nach Blutentnahme und weitere 90 Euro nach Vollendung der Messungen.

2.3 Testzeitpunkte

Nach Genotypisierung durch Dr. med. habil. Thomas Sander am Cologne Center for Genomics hinsichtlich des Polymorphismus rs3812718 (IVS5N+5 G -> A) im *SCN1A*-Gen erfolgte die weitere Untersuchung der homozygoten (Genotyp GG und AA) Probanden. Die Probanden wurden zu zwei verschiedenen Sessions, die mindestens zwei Wochen auseinander lagen gemessen.

In jeder Session wurde zunächst eine Baseline-Messung durchgeführt, gefolgt von einer zweiten Messung 4,5 Stunden nach der Einnahme von CBZ oder Placebo.

2.4 Einflussfaktoren

In vorangegangenen Studien konnte ein Einfluss des weiblichen Zyklus auf die kortikale Erregbarkeit gezeigt werden (Smith *et al.* 1999, Cahn *et al.* 2003, Hattemer *et al.* 2007). Zur Kontrolle dieses Effektes wurden alle weiblichen Probandinnen während der follikulären Phase zwischen Tag 6-10 nach Einsetzen der Monatsblutung gemessen. Um weitere Einflussfaktoren zu vermeiden, wurde allen Probanden die Einnahme von Koffein, Drogen oder ZNS-wirksamen Medikamenten 12 Stunden vor den Messungen untersagt. Bei bekannter Beeinflussung der kortikalen Erregbarkeit zu verschiedenen Schlafphasen und nach Schlafentzug wurde auf eine ausreichend Schlafdauer im Vorfeld der Untersuchung geachtet. Weiterhin wurde darauf geachtet, dass zum Zeitpunkt der Messungen keine im Vergleich zum Screening neu aufgetretenen Erkrankungen vorlagen. Zum Zeitpunkt der ersten Session wurde eine erneute körperliche Untersuchung durchgeführt sowie eine Befragung des aktuellen Gesundheitszustandes und der Begleitmedikation bei jeder Session. Aufgrund möglicher Nebenwirkungen von Carbamazepin, wie z. B. die Störung der Erregungsweiterleitung am Herzen, erfolgte im Vorfeld der ersten TMS-Untersuchungen eine EKG-Ableitung zum Ausschluss von Herzrhythmusstörungen. Bei erhöhtem Risiko fetaler Missbildungen wurde eine mögliche Schwangerschaft bei beiden Sessions mittels eines Schwangerschaftstestes ausgeschlossen.

2.5 Untersucher

Die TMS-Messungen der Studie wurden durch fünf verschiedene Untersucher durchgeführt. Im Vorfeld erhielten alle eine ausführliche Einweisung durch zwei erfahrene Betreuer. Zur Vorbereitung führten alle Untersucher mindestens drei Probemessungen und -auswertungen durch, bevor die Messungen der Probanden für die vorliegende Studie begannen. Während der gesamten Studie war ein erfahrener Untersucher zur weiteren Unterstützung vor Ort.

2.6 Durchführung der TMS-Untersuchung

2.6.1 Ableitung

Die Probanden wurden in einer halb liegenden Position in einem bequemen Untersuchungsstuhl untersucht. Um den für eine optimale Spulenposition notwendigen Abstand zwischen Kopf und Unterlage zu erreichen, wurde eine Nackenrolle verwendet. Die MEPs wurden mittels EMG über zwei Oberflächenelektroden abgeleitet. Wie in bereits vorangegangenen Studien wurden hierfür die MEPs des M. abductor digiti minimi registriert (Hattemer et al. 2007, Reis et al. 2004). Hierfür wurde die Ableitelektrode auf dem Muskelbauch und die Referenzelektrode lateral über der Articulatio interphalangea manus proximalis V befestigt. Da per Einschlusskriterien ausschließlich Rechtshändler teilnahmen wurde der Motorkortex der linken (dominanten) Hemisphäre untersucht.

2.6.2 Datenaufzeichnung

Das EMG-Rohsignal wurde mittels Differenzverstärker intensiviert und gefiltert (20Hz zu 10kHz). Im Anschluss erfolgte die Datenverarbeitung, Speicherung und Auswertung mittels einer speziellen Software (Magnetix®, Center for Sensorimotor Research, München). Die Auswertung erfolgte im Anschluss offline.

2.6.3 Stimulation

Zur Stimulation standen zwei Magnetstimulatoren des Typs Magstim 200 (Magstim®, Whitland, Dysfeld, UK), die über ein Bistim-Modul (Magstim®, Whitland, Dysfeld, UK) mit der Spule verbunden waren, zur Verfügung. Die maximale Stimulusintensität betrug zwei Tesla. Aufgrund der besseren Fokussierung gegenüber einer Rundspule wurde eine 8-förmige Spule mit jeweils 7cm Außendurchmesser beider Ringe und einem im zentralen Segment von anterior nach posterior verlaufendem Stromfluss verwendet (Cohen et al. 1991). In einem Winkel von ca. 45° zur Sagitalebene wurde die Spule mit nach dorsolateral zeigendem Handgriff flach auf Höhe des linkshemisphärischen Motorkortex auf den Schädel der Probanden gelegt. Durch Stimulation konnte auf diese Weise ein von posterior nach anterior verlaufender Induktionsstrom rechtwinklig zum Sulcus centralis induziert werden (Brasil-Neto et al. 1992, Mills et al. 1992). Zur Bestimmung der optimalen Position wurde die Spule zentimeterweise im Bereich des Motorkortex verändert bis bei Stimulation mit leicht überschwelligen Reizen das MEP mit der größten Amplitude hervorgerufen werden konnte. Nach Auffinden dieser idealen Stimulationsposition wurde diese mit einem Stift gekennzeichnet, um bei erneuten Messungen den gleichen Stimulationsort zu gewährleisten. Um eine Variabilität der MEP-Amplituden so gering wie möglich zu halten, wurde versucht instabile Stimulationsbedingungen wie z.B. leichte Änderungen der Position, Kippung oder Orientierung der Spule im Verlauf der Untersuchung zu vermeiden. Hierfür wurde die Spule während der gesamten Untersuchungszeit über ein Stativ in der exakten Position gehalten.

2.6.4 Stimationsparameter

Alle Messungen zur Bestimmung der kortikalen Exzitabilität erfolgten anhand einer festgelegten Reihenfolge. Zuerst wurden mittels Einzelstimulationen der TR und die RMT bestimmt, danach folgten die Doppelstimulationsparameter SICI und ICF. Zum Schluss jeder Session wurde die CSP mittels Einzelstimulation bestimmt.

Zur Erhebung der einzelnen Stimationsparameter erfolgten stets Mehrfachmessungen. Das Messergebnis pro Person und Sitzung wurde durch die Bestimmung der Mittelwerte getrennt für RMT, SICI, ICF, manuelle CSP und automatisierte CSP berechnet.

• Motorische Ruheschwelle

Die Motorische Ruheschwelle (RMT, “resting motor threshold”) stellt bei vollständig entspanntem Muskel die minimale Reizstärke dar, um mindestens bei 50% der Fälle ein überschwellige MEP von $>50\mu\text{V}$ (peak-to-peak Amplitude) zu erreichen. Für die Studie musste dieser Wert bei mindestens 5 von 10 Fällen erreicht werden (Ziemann et al. 1998). Mit Hilfe audiovisueller Kontrolle wurde die Muskelentspannung überprüft.

Zur Bestimmung der RMT wurde in 1%-Schritten des maximalen Stimulator Outputs die zu applizierende Stimulusintensität variiert und mithilfe des Programms MLTH (Maximum Likelihood Schwelle Jagd Verfahren für TMS © Dr. Friedemann Awiszus, Magdeburg, Deutschland) festgelegt.

• Testreiz

Der Testreiz (TR) stellt die Reizstärke dar, mit der die Amplitude des MEP im Durchschnitt 1-1,5mV (gemessen als Differenz des maximalen negativen und positiven Ausschlags eines MEP; engl. peak-to-peak Amplitude) betrug. Um inhibierende oder faszitierende Effekte durch mehrmalige Stimulation auszuschließen, wurde als Einzelreiz im Abstand von 5 Sekunden stimuliert.

• Intrakortikale Inhibition und Fazilitierung

Zur Bestimmung der intrakortikalen Inhibition (SICI, “short intracortical inhibition”) und Fazilitierung (ICF, “intracortical facilitation”) wurden Doppelstimulationen mit Inter-Stimulus-Intervallen (ISI) von 3ms (SICI) und 10ms (ICF) verwendet. Die Intensität des konditionierenden Reizes betrug 75% der RMT. Die Intensität des darauffolgenden überschwelligen Testreizes wurde bereits im Vorfeld bestimmt (siehe oben). Zum Vergleich wurden ebenfalls Messungen ohne vorangegangenen konditionierenden Reiz, im Sinne einer Einzelstimulation in der Intensität des Testreizes, vorgenommen, sodass insgesamt 45 Stimulationen (15 Messungen bei 0ms, 3ms, und 10ms) in zufälliger durch das Computerprogramm erstellter Reihenfolge durchgeführt wurden. Während aller Doppelstimulationen wechselte das „inter-trial intervall“ randomisiert zwischen 4 und 6 Sekunden, wogegen es bei allen Einzelstimulationen konstant bei 5 Sekunden lag. Die mit der Doppelstimulation erhobenen peak-to-peak- Amplituden wurden infolge von Mehrfachmessungen als Mittelwert aus 15 Einzelmessungen berechnet.

Im Gegensatz zur ICF, die als konditioniertes MEP / unkonditioniertes MEP x 100%

angegeben wird, wurden zur besseren Vergleichbarkeit für die SICI dieser Wert von 100% abgezogen. Daher wurde in der folgenden Arbeit SICI mit der Formel $100\% - (\text{konditioniertes MEP} / \text{unkonditioniertes MEP} \times 100\%)$ berechnet (Wahl und Ziemann 2007).

• Cortical Silent Period

Zur Bestimmung der kortikal induzierten Postinnervationsstille (CSP, “Cortical Silent Period”) musste der Muskel zu etwa 30% der max. Kontraktionsstärke angespannt werden. Anschließend erfolgten 20 Einzelstimuli im Abstand von 5 Sekunden mit 110% der RMT. Als Hilfestellung für den Probanden sollten die Finger gegen ein um sie gebundenes Gummiband gespreizt werden. Wie zuvor wurde auch hier die Muskelkontraktion audiovisuell kontrolliert. Als Dauer der CSP wurde der Zeitraum zwischen Beginn des stimulationsinduzierten MEP und anschließend wiederauftretender EMG-Aktivität bestimmt.

Zur Berechnung der CSP wurden Beginn und Ende auf zwei verschiedene Weisen offline nach erfolgter Messung bestimmt. Eine Methode entsprach der visuellen Markierung durch den jeweiligen Untersucher. Bei vier verschiedenen Untersuchern wurden im Voraus die Kriterien der zu messende Parameter gemeinsam festgelegt. Bei dieser Methode galt als Beginn das die normale EMG-Aktivität durchbrechende stimulationsinduzierte MEP und als Ende das Wiedereinsetzen der willkürlichen Muskelaktivität. Da dies ein sehr subjektives Verfahren darstellt und die Messkriterien einen direkten Einfluss auf die Dauer haben, wurde zusätzlich zur Objektivierung ein eigens entwickeltes Computerprogramm (CSPDuration©, C. Bauer, Schopp, Deutschland) mit automatisiertem Algorithmus zur Bestimmung der Anfangs- und Endpunkte verwendet. Als Vorlage galt die von Garvey et al. (2001) beschriebene Methode, die wie im Folgenden beschrieben umgesetzt wurde.

In dieser graphischen Methode wurden alle 20 EMG-Ableitungen pro CSP-Bestimmung „single-trial full-wave“ rektifiziert und gemittelt.

Rektifizieren bedeutet, dass der Betrag der EMG-Amplituden verwendet wurde. Die Bestimmung der CSP erfolgte anschließend mittels eines Algorithmus, der den Median des prä-Stimulus EMG, die mediane konsekutive Differenz (MCD) und eine Konstante von 2.66 verwendet. Die MCD wird berechnet als der Mittelwert der Differenzen zwischen je zwei aufeinanderfolgenden Datenpunkten des prä-Stimulus-EMGs. Sie ist somit ein Maß für die Variation der prä-Stimulus-EMG-Daten.

Der Standardwert der CSP Duration-Software beträgt 51 Datenpunkte. Die Datenerhebung beginnt 50ms vor dem Stimulationszeitpunkt. Der Beginn der CSP ist nach dem Ende des stimulationsinduzierten MEP der Zeitpunkt, an dem der erste von fünf aufeinander folgenden Datenpunkten unterhalb der unteren Variationsgrenze (Median des prä-Stimulus EMG – (MCD x 2,66)) liegt. Der Beginn der CSP wird somit im Vergleich zur visuellen Methode erst nach dem stimulationsinduzierten MEP gesetzt. Alle nachfolgenden Datenpunkte werden als Teil der CSP definiert, bis es zu einer Rückkehr der anhaltenden EMG-Aktivität kommt. Der Endpunkt wird als der erste Punkt definiert, der über der unteren Variationsgrenze liegt, wenn 50% oder mehr der im 5 ms-Fenster folgenden Datenpunkte ebenfalls über der unteren Variationsgrenze liegen. Das Programm ignoriert berechnete CSP-Längen des original-Algorithmus, die kürzer als 30ms sind oder ihren Beginn mehr als 250ms nach dem MEP haben. Die letztendlich angegebene CSP entspricht ebenfalls wie SICI und ICF einem Mittelwert, in diesem Fall aus 20 Einzelmessungen. In Abbildung 1 werden beide Auswertemethoden zur Bestimmung der CSP nebeneinander dargestellt.

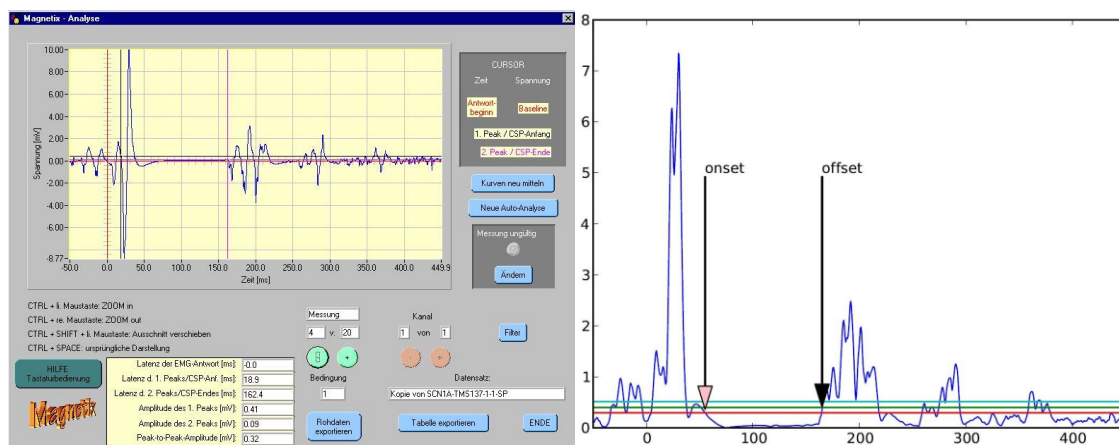


Abbildung 1: Darstellung der beiden Methoden zur Bestimmung der Cortical Silent Period
 Links: manuell bestimmtes Verfahren, Beginn mit Einsetzen des stimulationsinduzierten MEP und Ende mit visuellem Wiedereinsetzen der Muskelaktivität
 Rechts: automatisiertes Verfahren (CSPDuration©, C. Bauer, Schopp, Deutschland), Beginn nach Ende des stimulationsinduzierten MEP und Ende mit Wiedereinsetzen der Muskelaktivität, wenn >50% der Datenpunkte die untere Variationsgrenze überschreiten. Die horizontalen Linien beschreiben den „mean“ sowie die „untere Variationsgrenze (Median des prä-stimulus EMG - (MCDx2,66))“ und „obere Variationsgrenze (Median des prä-stimulus EMG + (MCDx2,66))“.

3 Statistische Auswertung

Die Verwendung einer Fallzahlberechnung ergab, dass das Probandenkollektiv mit $n=93$ in der Lage ist, eine Studie mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,05%, bei einer Power von 0,8 und einem "nachzuweisendem" Korrelationskoeffizienten von 0,7 zu erfüllen (Hsieh et al. 1998).

3.1 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte mittels PASW® Statistics 20® (SPSS, IBM Company, Chicago, Illinois).

Die demographischen Daten wurden als Mittelwerte und Standardabweichungen ($MW \pm SD$) angegeben.

Zum Vergleich von Uhrzeiten der Messungen beider Sessions wurde ein gepaarter t-Test durchgeführt.

Zur Beurteilung ob beide Baseline-Messungen unter gleichen Umständen gemessen wurden, wurden Gruppen-, Zeit- und Interaktionseffekte auf die TMS-Parameter (TR, RMT, SICI, ICF, manuelle CSP, automatisierte CSP) mithilfe einer repeated measures MANOVA ($n=93$) mit dem Untersucher als vier-stufigen Zwischen-Subjekt-Faktor (Untersucher 1, 2, 3, 4) und Session (Session 1, 2) als Inner-Subjekt-Faktor untersucht. Aufgrund der großen Fallzahl wurden die Daten mittels Histogrammen auf Normalverteilung (Gaussche Verteilung) hin inspiziert und daraufhin parametrische Testverfahren verwendet.

• Re-Test-Reliabilität

Zur Bestimmung der Korrelationen für alle TMS-Parameter wurde Pearson's product moment correlation coefficient (r) verwendet. Das Signifikanzniveau wurde auf $p=.05$ (zweiseitiger Test) festgelegt.

• Umgang mit Ausreißern

Einige Probanden wiesen während der beiden Sessions stark voneinander abweichende Werte auf. Da solch starke Differenzen zwischen beiden Messungen ohne Intervention

am ehesten auf Messfehlern beruhen, erfolgte eine Filterung dieser Ausreißer.

Ausreißer wurden anhand der Differenz der einzelnen TMS-Parameter beider Sessions bestimmt und als $> \text{Mittelwert} + 2 \times \text{SD}$ oder $< \text{Mittelwert} - 2 \times \text{SD}$ definiert. Die Ausreißer wurden für jeden TMS-Parameter einzeln ausgeschlossen.

• Einflussfaktoren auf die Re-Test-Reliabilität

Um mögliche Einflüsse von Faktoren zu klären, wurden die Korrelationen in Abhängigkeit von nachfolgenden Variablen errechnet:

- ✧ einzelne Untersucher (1, 2, 3, 4)
- ✧ Untersucherwechsel (gleicher, verschiedene)
- ✧ Geschlecht (männlich, weiblich)
- ✧ Genotyp des *SCN1A*-Polymorphismus (AA, GG)
- ✧ Re-Test-Intervall (kurz, lang) anhand des Mediansplit
- ✧ Untersuchungszeitpunkt (vormittags, nachmittags) anhand Split-off bei 12 Uhr

Zur Beurteilung eines möglichen Einflusses durch die Erfahrungen der Untersucher mit TMS wurden die Messungen zusätzlich in chronologischer Reihenfolge kumulativ in fünf Schritten zusammengefasst. Die Korrelationen wurden dann pro Untersucher separat für Messung 1-5, Messung 1-10, Messung 1-15 u.s.w. berechnet.

• Variationskoeffizient

Zur besseren Vergleichbarkeit mit anderen Studien wurde zusätzlich zur Bestimmung von Inter-Subjekt-Variabilitäten der Variationskoeffizient ($cv = SD/MW$) berechnet.

TEIL III - ERGEBNISSE

1 Demographische Daten

Die Datenerhebung mit beiden TMS-Messungen erfolgte zwischen September 2009 und Mai 2011.

Aufgrund der ausschließlichen Berücksichtigung von Probanden, die bezüglich des Polymorphismus im *SCN1A*-Gens einen homozygoten Genotypen aufwiesen, wurden von den 304 gescreenten Freiwilligen 101 Probanden in der Studie mittels TMS untersucht. In die endgültige Auswertung gingen letztendlich 93 Probanden ein, da bei zwei Probanden infolge eines Wohnortwechsels keine zweite Session stattfand. Aufgrund technischer Schwierigkeiten musste ein Proband von der Auswertung ausgeschlossen werden. Da ein fünfter Untersucher nur fünf Probanden zum Teil gemeinsam mit einem anderen Untersucher gemessen hat, wurden zur besseren Vergleichbarkeit dessen Probanden aus der Auswertung genommen. Die letztendlich in die Berechnung eingegangenen Probanden wurden durch vier unterschiedliche Untersucher gemessen (siehe Tabelle 3).

Das Alter der 93 Probanden lag zwischen 19 und 36 Jahren (MW \pm SD: 23,74 \pm 3,38).

Es wurden 57 männlich (61,3%) und 36 weibliche (38,7%) Probanden untersucht.

Hinsichtlich der Genotypen des *SCN1A*-Polymorphismus war die Verteilung mit 45 Probanden für den Genotypen GG (48,4%) und 48 Probanden für den Genotypen AA (51,6%) relativ ausgeglichen.

Der Abstand zwischen beiden Sessions war mindestens 14 Tage und maximal 173 Tage (MW \pm SD: 34 \pm 25,6), der Median betrug 27 Tage.

Aufgrund des Studiendesigns mit einer nachfolgenden randomisierten Einnahme von Placebo oder Carbamazepin und einer weiteren Messung (postinterventionell) nach 4,5h erfolgte die Hauptanzahl der Baseline-Messungen vormittags. Beide Sessions begannen zwischen 7:35 Uhr und 14:10 Uhr (MW \pm SD: 10:19 Uhr \pm 1:26 vs. MW \pm SD: 9:49 Uhr \pm 1:21). Im Durchschnitt war die zweite Session 30 Minuten früher als die erste Session.

Zum Zeitpunkt der ersten Session wurden 78 Probanden (83,9%) bis 12 Uhr und 15 Probanden (16,1%) nach 12 Uhr gemessen. Zum Zeitpunkt der zweiten Session wurden

84 Probanden (90,3%) bis 12 Uhr und 9 Probanden (9,7%) nach 12 Uhr untersucht. Von den 15 Probanden, die zum Zeitpunkt der ersten Session nach 12 Uhr gemessen wurden, wurden nur drei Probanden auch bei der zweiten Session nach 12 Uhr gemessen.

Die Beurteilung eines zirkadianen Einflusses kann daher anhand der vorliegenden Daten nicht vorgenommen werden, da aufgrund des vorgegebenen Studiendesigns der Großteil der Messungen vormittags erfolgte.

Tabelle 1 gibt einen guten Überblick über die Gesamtanzahl aller Probanden unter Berücksichtigung der untersuchten Einflussfaktoren. Des weiteren ist dargestellt wie viele Probanden letztendlich nach Ausschluss der Ausreißer in die Berechnung eingegangen sind.

Tabelle 1: Anzahl der ausgewerteten Probanden (unterteilt in Gesamtanzahl und nach Ausschluss der Ausreißer)

	Parameter	Gesamt	gleiche U	Verschiedene U	U1	U 2	U 3	U 4	Weiblich	Männlich	AA	GG
Gesamt- anzahl inkl. Ausreißer	alle Parameter	93	88	5	21	45	14	8	36	57	48	45
	TR	86 (7)	81 (7)	5 (0)	20 (1)	42 (3)	13 (1)	8 (0)	35 (1)	53 (4)	45 (3)	43 (2)
	RMT	91 (2)	86 (2)	5 (0)	20 (1)	44 (1)	13 (1)	8 (0)	35 (1)	56 (1)	45 (3)	44 (1)
Ausgewertete Anzahl ohne Ausreißer	SICI	91 (2)	86 (2)	5 (0)	20 (1)	44 (1)	14 (0)	7 (1)	35 (1)	56 (1)	45 (3)	43 (2)
	ICF	87 (6)	82 (6)	5 (0)	20 (1)	42 (3)	14 (0)	7 (1)	34 (2)	53 (4)	45 (3)	41 (4)
	CSP manuell	89 (4)	84 (4)	5 (0)	20 (1)	43 (2)	13 (1)	8 (0)	35 (1)	55 (2)	46 (2)	42 (3)
	CSP aut.	86 (7)	82 (6)	5 (0)	21 (0)	42 (3)	13 (1)	7 (1)	34 (2)	52 (5)	44 (4)	42 (3)

Anzahl der ausgewerteten Probanden nach Ausschluss der Ausreißer, Anzahl der Ausreißer in Klammern dahinter. Aufteilung nach einzelnen Untersuchern, wenn beide Messungen durch den gleichen Untersucher durchgeführt wurden. U: Untersucher, AA: Gentyp AA des SCN1A-Genpolymorphismus, GG: Gentyp GG des SCN1A-Genpolymorphismus, TR: Testreiz, RMT: Ruhe-Motor-Schwelle (resting motor threshold), SICI: intrakortikale Inhibition (short intracortical inhibition); ICF: intrakortikale Fazilitierung (intracortical facilitation); CSP manuell: manuell bestimmte Cortical Silent Period; CSP aut.: automatisiert bestimmte Cortical Silent Period

2 Reproduzierbarkeit der TMS-Parameter

Im Folgenden werden die Gesamtkorrelationen aller TMS-Parameter der 93 Probanden einzeln ohne Einteilung nach spezifischen Gesichtspunkten dargestellt. Eine Zusammenfassung ist in Tabelle 2 dargestellt.

Ein Vergleich der einzelnen TMS-Parameter verdeutlichte, dass sich für TR ($r=.934$, $p<.001$) und RMT ($r=.851$, $p<.001$) die stärksten Korrelationen zwischen beiden Sessions ergaben. Die CSP wies mittlere Korrelationen auf, wobei sich ein Unterschied mit einer besseren Korrelation für die automatisiert bestimmte Methode ($r=.697$, $p<.001$) im Vergleich zu manueller Methode ($r=.550$, $p<.001$) ergab. Für SICI ($r=.383$, $p<.001$) und ICF ($r=.034$, $p=.756$) ergaben sich schwache bis keine Zusammenhänge zwischen beiden Sessions.

Im Anschluss werden die TMS-Parameter ausführlicher einzeln dargestellt.

Tabelle 2: Korrelationen der TMS-Parameter gesamt

Parameter	Gesamt (n=93) ¹
TR	.934 **
RMT	.851 **
SICI	.383 **
ICF	.034
CSP manuell	.550 **
CSP aut.	.697 **

* $p<.05$, ** $p<.001$; ¹n=91 bei RMT und SICI; n=89 bei CSP manuell, n=87 bei ICF, n=86 bei TR und CSP aut.; TR: Testreiz, RMT: Ruhe-Motor-Schwelle (resting motor threshold), SICI: intrakortikale Inhibition (short intracortical inhibition); ICF: intrakortikale Fazilitierung (intracortical facilitation); CSP manuell: manuell bestimmte Cortical Silent Period; CSP aut.: automatisiert bestimmte Cortical Silent Period

Testreiz

Der mittlere TR, angegeben in Prozent der maximalen Stimulusintensität, betrug bei Session 1 $55,79 \pm 8,44$ (Range 35-75) und bei Session 2 $56,83 \pm 8,61$ (Range 35-75). Wie in Abbildung 2 gut ersichtlich ergab sich zwischen beiden Sessions eine starke Korrelation ($r=.934$, $p<.001$).

Der Variationskoeffizient (cv) lag bei Session 1 bei 15,1% und bei Session 2 bei 15,2%.

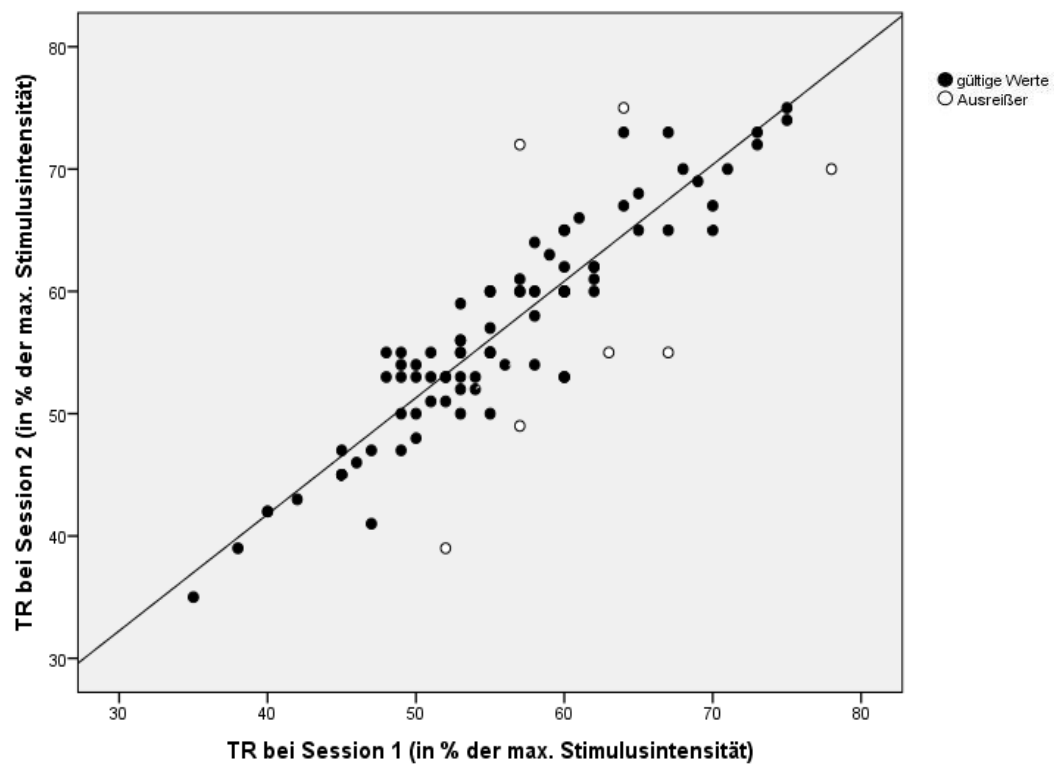


Abbildung 2: Signifikante Korrelation für den Testreiz (TR) zwischen beiden Sessions. ($r=.934$, $p<.001$, $n=86$)

Schwarze Punkte: in der Korrelation enthaltene Probanden

Weißer Punkte: aus der Auswertung genommene Ausreißer

Ruhe-Motor-Schwelle

Die mittlere RMT, angegeben in Prozent der maximalen Stimulusintensität, betrug bei Session 1 $44,19 \pm 8,99$ (Range 28-70) und bei Session 2 $44,09 \pm 8,74$ (Range 29-71). Wie in Abbildung 3 gut ersichtlich ergab sich zwischen beiden Sessions ergab sich eine starke Korrelation ($r=.851$, $p<.001$). Der cv lag bei Session 1 bei 20,4% und bei Session 2 bei 19,8%.

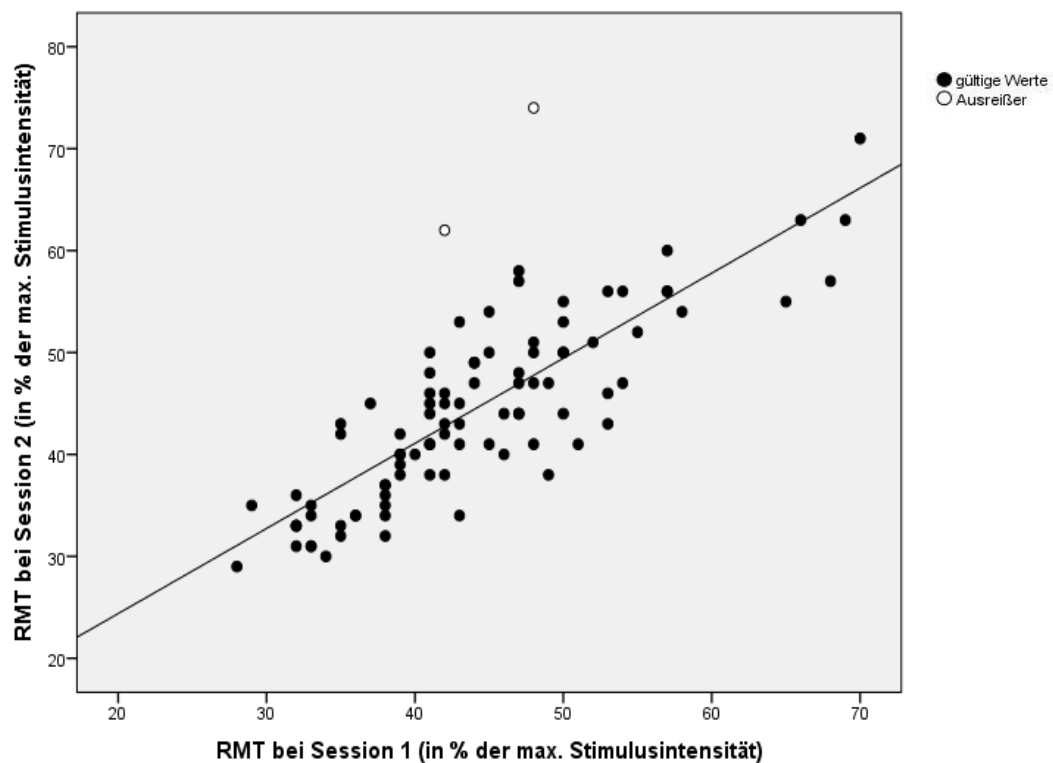


Abbildung 3: Signifikante Korrelation für die Ruhe-Motor-Schwelle (RMT) zwischen beiden Sessions. ($r=.851$, $p<.001$, $n=91$)

Schwarze Punkte: in der Korrelation enthaltene Probanden

Weißer Punkte: aus der Auswertung genommene Ausreißer

Intrakortikale Inhibition

Die mittlere SICI, angegeben in 100% - (konditioniertes MEP / unkonditioniertes MEP x 100%), betrug bei Session 1 $24,6 \pm 27,37$ (Range -56,21-92,36) und bei Session 2 $20,48 \pm 29,97$ (Range -77,06-90,16). Zwischen beiden Sessions ergab sich eine schwache Korrelation ($r=.383$, $p<.001$), siehe Abbildung 4.

Der cv lag bei Session 1 bei 75,7% und bei Session 2 bei 77,8%.

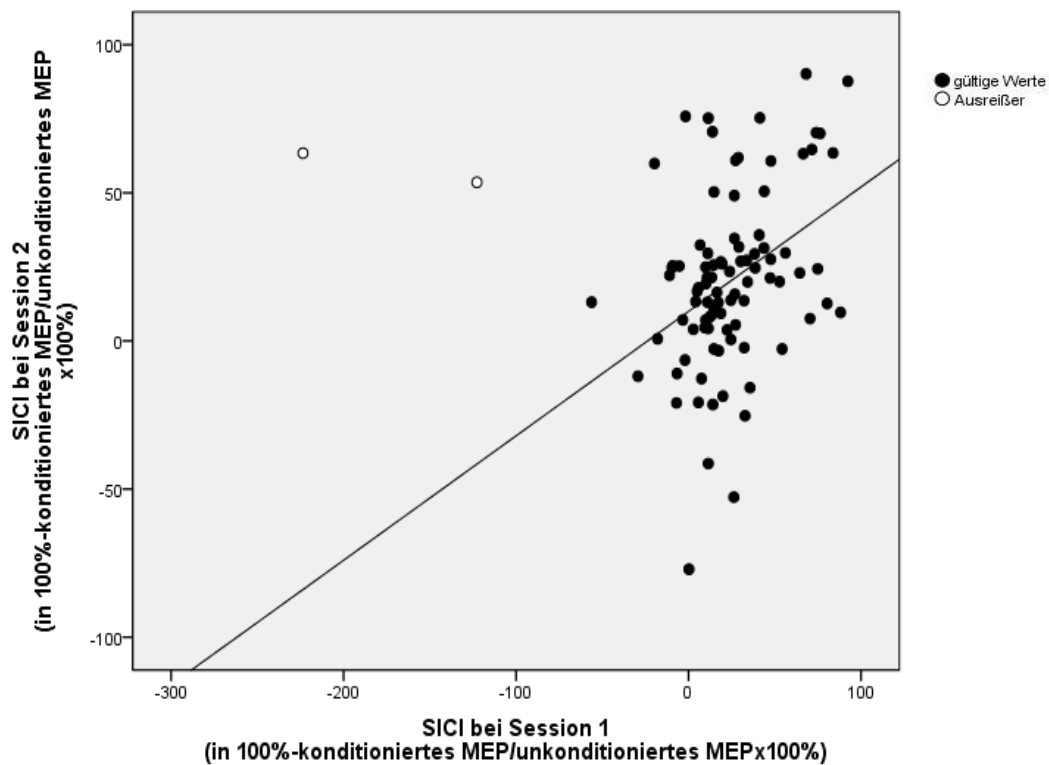


Abbildung 4: Signifikante Korrelation für die intrakortikale Inhibition (SICI) zwischen beiden Sessions. ($r=.383$, $p<.001$, $n=91$), MEP: motorisch evozierte Potentiale
Schwarze Punkte: in der Korrelation enthaltene Probanden
Weiße Punkte: aus der Auswertung genommene Ausreißer

Intrakortikale Fazilitierung

Die mittlere ICF, angegeben in konditioniertes MEP / unkonditioniertes MEP x 100%, betrug bei Session 1 $92,47 \pm 25,6$ (Range 44,32-178,05) und bei Session 2 $95,28 \pm 21,93$ (Range 54,44-165,89). Zwischen beiden Sessions ergab sich keine signifikante Korrelation ($r=.034$, $p=.756$), siehe Abbildung 5.

Der cv lag bei Session 1 bei 27,7% und bei Session 2 bei 23,0%.

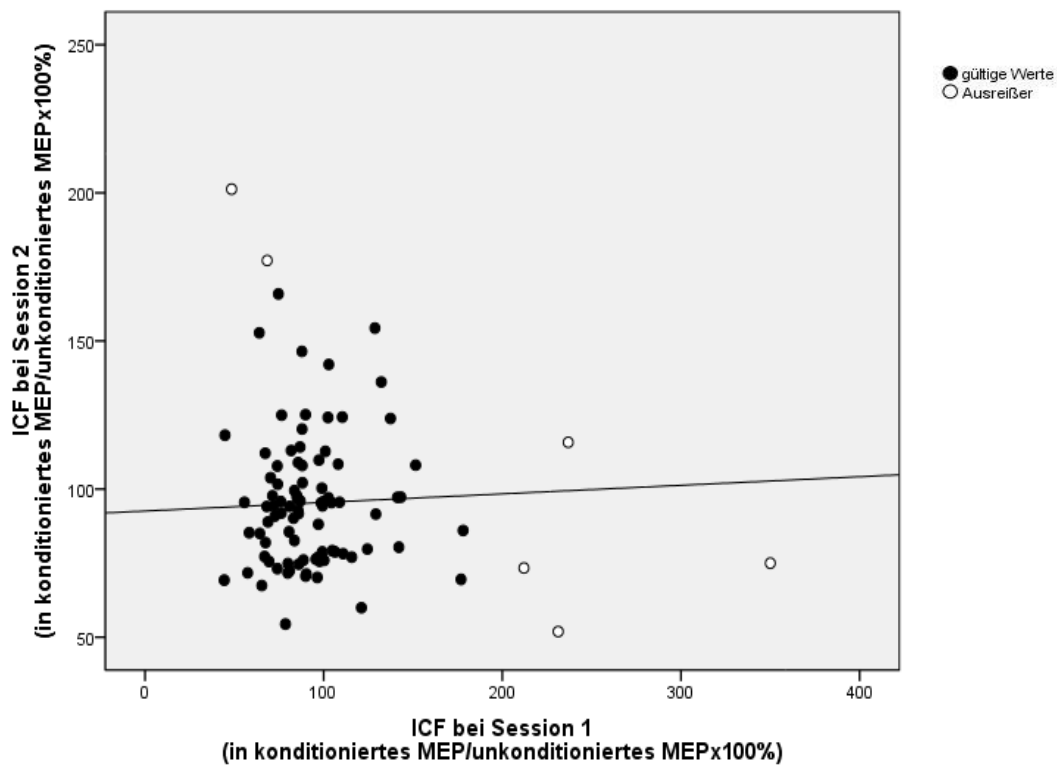


Abbildung 5: Signifikante Korrelation für die intrakortikale Fazilitierung (SICI) zwischen beiden Sessions. ($r=.034$, $p>.05$, $n=87$), MEP: motorisch evozierte Potentiale
Schwarze Punkte: in der Korrelation enthaltene Probanden
Weiße Punkte: aus der Auswertung genommene Ausreißer

Manuell bestimmte Cortical Silent Period

Die mittlere manuell bestimmte CSP, angegeben als die Dauer in ms, betrug bei Session 1 $104,77 \pm 33,24$ (Range 47,53-193,39) und bei Session 2 $110,34 \pm 35,01$ (Range 56,95-201,12). Zwischen beiden Sessions ergab sich eine mittlere Korrelation ($r=.550$, $p<.001$), siehe Abbildung 6.

Der cv lag bei Session 1 bei 31,7% und bei Session 2 bei 29,9%.

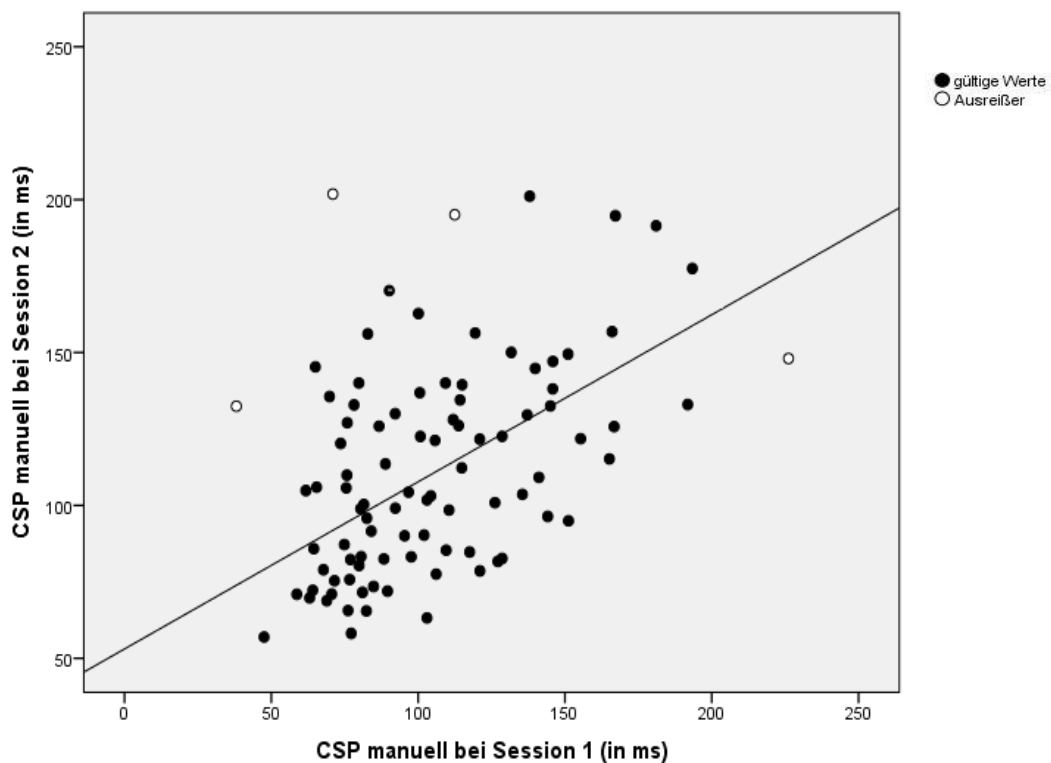


Abbildung 6: Signifikante Korrelation für die manuell bestimmte Cortical Silent Period (CSP manuell) zwischen beiden Sessions. ($r=.550$, $p<.001$, $n=89$)

Schwarze Punkte: in der Korrelation enthaltene Probanden

Weißer Punkte: aus der Auswertung genommene Ausreißer

Automatisiert bestimmte Cortical Silent Period

Die mittlere automatisiert bestimmte CSP, angegeben als die Dauer in ms, betrug bei Session 1 $70,78 \pm 19,29$ (Range 40,08-121,71) und bei Session 2 $75,52 \pm 21,09$ (Range 40,39-137,28). Zwischen beiden Sessions ergab sich eine mittlere Korrelation ($r=.697$, $p<.001$), siehe Abbildung 7.

Der cv lag bei Session 1 bei 27,3% und bei Session 2 bei 27,9%.

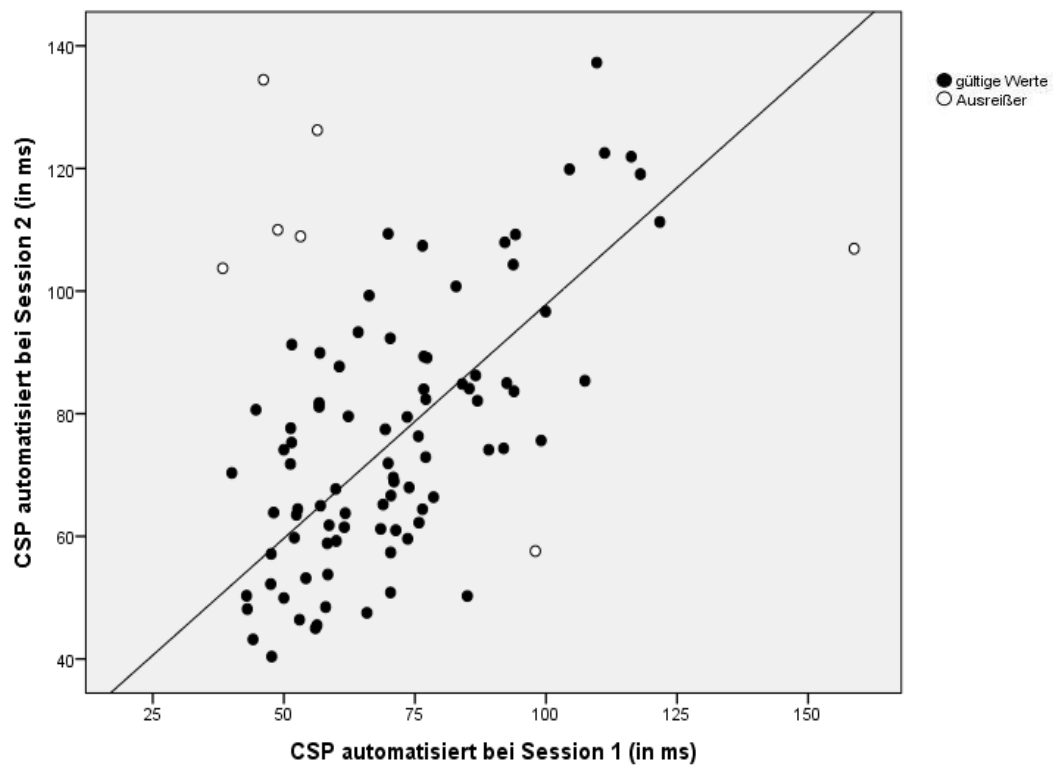


Abbildung 7: Signifikante Korrelation für die automatisiert bestimmte Cortical Silent Period (CSP automatisiert) zwischen beiden Sessions. ($r=.697$, $p<.001$, $n=86$)

Schwarze Punkte: in der Korrelation enthaltene Probanden

Weißer Punkte: aus der Auswertung genommene Ausreißer

3 Einfluss unterschiedlicher Faktoren auf die Re-Test-Reliabilität

3.1 Untersucherabhängigkeit

Insgesamt wurden die in die Auswertung eingegangenen 93 Probanden durch vier verschiedene Untersucher gemessen. Bei 88 Probanden (94,6%) wurden beide Sessions durch den gleichen Untersucher und bei 5 Probanden (5,4%) durch verschiedene Untersucher durchgeführt. Die Gruppengrößen der einzelnen Untersucher variierten stark (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Anzahl der untersuchten Probanden pro Untersucher und pro Session

Untersucher	Session 1	Session 2	Session 1+2	Gesamt
1	25	22	21	47
2	46	49	45	95
3	14	14	14	28
4	8	8	8	16

Session 1+2: Probanden, die an beiden Sessions durch den gleichen Untersucher gemessen wurden

Untersucherwechsel

Den Vergleich der Korrelationen der Probanden, die an beiden Sessions durch den gleichen Untersucher gemessen wurden, mit denen die durch verschiedene Untersucher gemessen wurden, zeigt Tabelle 4.

Bei leicht eingeschränkter Beurteilbarkeit aufgrund nicht signifikanter Werte bei einer sehr kleinen Gruppengröße für verschiedene Untersucher (n=5) waren die Korrelationen für gleiche Untersucher stets besser. Neben relativ kleinen Unterschieden bei TR, RMT, SICI und ICF zeigte sich sowohl bei der manuell als auch automatisiert bestimmten CSP der stärkste Unterschied. Insgesamt führte der Wechsel des Untersuchers zu einer verminderten Korrelation bei allen TMS-Parametern (siehe Abbildung 8).

Tabelle 4: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit des gleichen Untersuchers bei beiden Sessions

Parameter	Gleiche Untersucher (n=88) ¹	Verschiedene Untersucher (n=5)
TR	.938 **	.833
RMT	.850 **	.782
SICI	.383 **	.292
ICF	.024	-.200
CSP manuell	.566 **	.159
CSP aut.	.702 **	.198

* $p < .05$, ** $p < .001$; ¹n=86 bei RMT und SICI, n=84 bei CSP manuell, n=82 bei ICF und CSP aut., n=81 bei TR; TR: Testreiz, RMT: Ruhe-Motor-Schwelle (resting motor threshold), SICI: intrakortikale Inhibition (short intracortical inhibition); ICF: intrakortikale Fazilitierung (intracortical facilitation); CSP manuell: manuell bestimmte Cortical Silent Period; CSP aut.: automatisiert bestimmte Cortical Silent Period

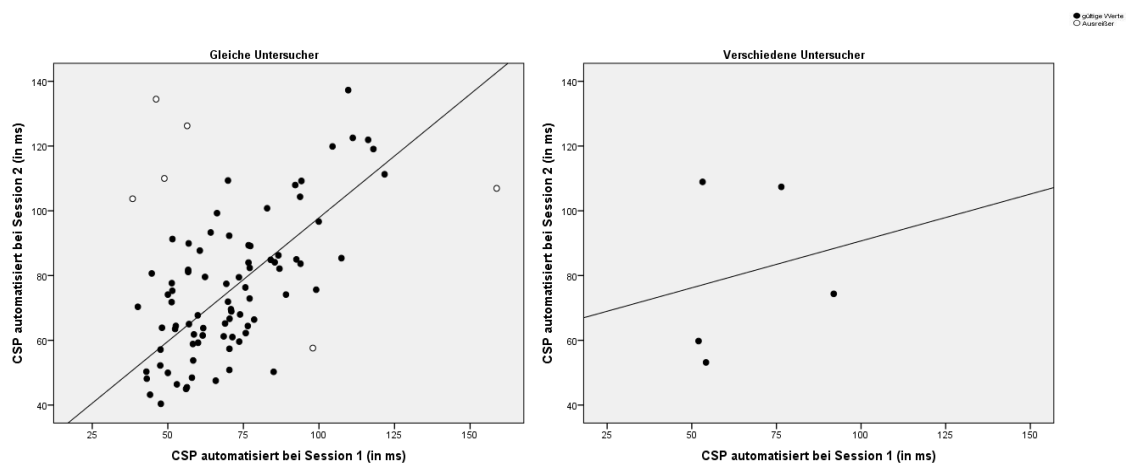


Abbildung 8: Korrelationen für die automatisiert bestimmte Cortical Silent Period (CSP automatisiert) in Abhängigkeit eines Untersucherwechsels während beider Sessions.

Gleiche Untersucher: $r = .702$, $p < .001$, $n = 82$ vs. Verschiedene Untersucher: $r = .198$, $p > .05$, $n = 5$

Schwarze Punkte: in der Korrelation enthaltene Probanden

Weißer Punkte: aus der Auswertung genommene Ausreißer

separate Untersucher

Tabelle 5 zeigt die untersucherabhängigen Korrelationen der Probanden, die an beiden Sessions durch den gleichen Untersucher gemessen wurden.

Zwischen den verschiedenen Untersuchern zeigten sich einige Unterschiede. Der TR wies über alle Untersucher hinweg gleichbleibend starke Korrelationen auf (alle $r \geq .9$). Die RMT erreichte bei drei von vier Untersuchern eine Korrelationen von $r > .8$, nur ein Untersucher wies im Vergleich dazu einen leicht reduzierten Wert mit $r = .768$ auf (siehe Abbildung 9). Auffällig waren dagegen die Ergebnisse für die beiden CSPs (manuell und automatisiert bestimmt). Die Korrelation der manuell bestimmten CSP schwankte

zwischen stark (Untersucher 3, $r=.861$) bis sehr schwach (Untersucher 2, $r=.397$). Ähnliche Ergebnisse zeigte auch SICI mit den größten Unterschieden zwischen den einzelnen Untersuchern ($r>.7$ vs. $r<.1$).

Tabelle 5: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit des Untersuchers

Parameter	Untersucher 1 (n=21) ¹	Untersucher 2 (n=45) ²	Untersucher 3 (n=14) ³	Untersucher 4 (n=8) ⁴
TR	.979 **	.897 **	.920 **	.930 *
RMT	.891 **	.833 **	.768 *	.849 *
SICI	.738 **	.336 *	.048	.673
ICF	.225	.101	-.018	-.391
CSP manuell	.785 **	.397 *	.861 **	.605
CSP aut.	.809 **	.461 *	.863 **	.873 *

* $p<.05$, ** $p<.001$; ¹ $n=20$ bei TR, RMT, SICI, ICF und CSP manuell; ² $n=44$ bei RMT und SICI, $n=43$ bei CSP manuell, $n=42$ bei TR, ICF und CSP aut.; ³ $n=13$ bei TR, RMT, CSP manuell und CSP aut.; ⁴ $n=7$ bei SICI, ICF und CSP aut.; TR: Testreiz, RMT: Ruhe-Motor-Schwelle (resting motor threshold), SICI: intrakortikale Inhibition (short intracortical inhibition); ICF: intrakortikale Fazilitierung (intracortical facilitation); CSP manuell: manuell bestimmte Cortical Silent Period; CSP aut.: automatisiert bestimmte Cortical Silent Period

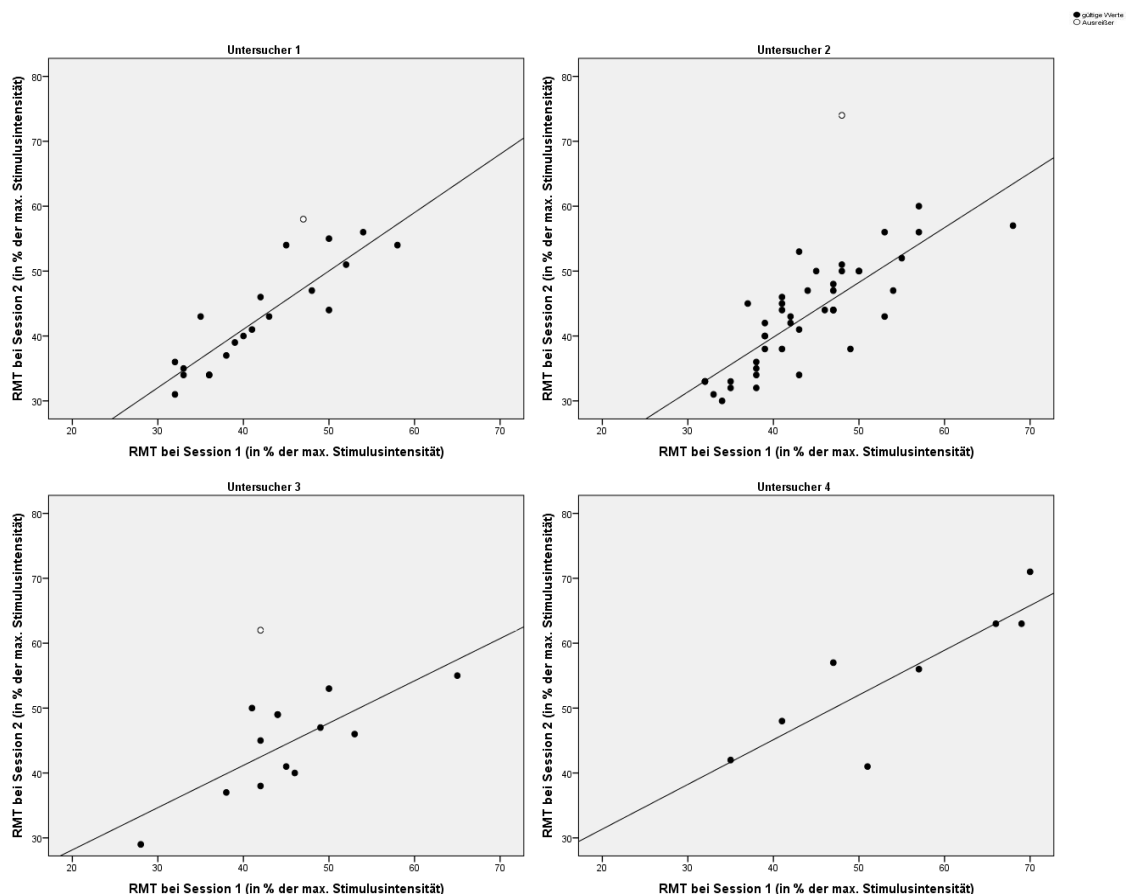


Abbildung 9: Korrelationen für die Ruhe-Motor-Schwelle (RMT) für die einzelnen Untersucher (n=4). Untersucher 1: $r=.891$, $p<.001$, $n=20$ vs. Untersucher 2: $r=.833$, $p<.001$, $n=44$ vs. Untersucher 3: $r=.768$, $p<.05$, $n=13$ vs. Untersucher 4: $r=.849$, $p<.05$, $n=8$ Schwarze Punkte: in der Korrelation enthaltene Probanden Weiße Punkte: aus der Auswertung genommene Ausreißer

Neben den stabilen Korrelationen der RMT (siehe Abbildung 9) für alle vier Untersucher sind die Korrelationsunterschiede der einzelnen Untersucher für die automatisierte CSP besonders gut in den Streudiagrammen ersichtlich (siehe Abbildung 10).

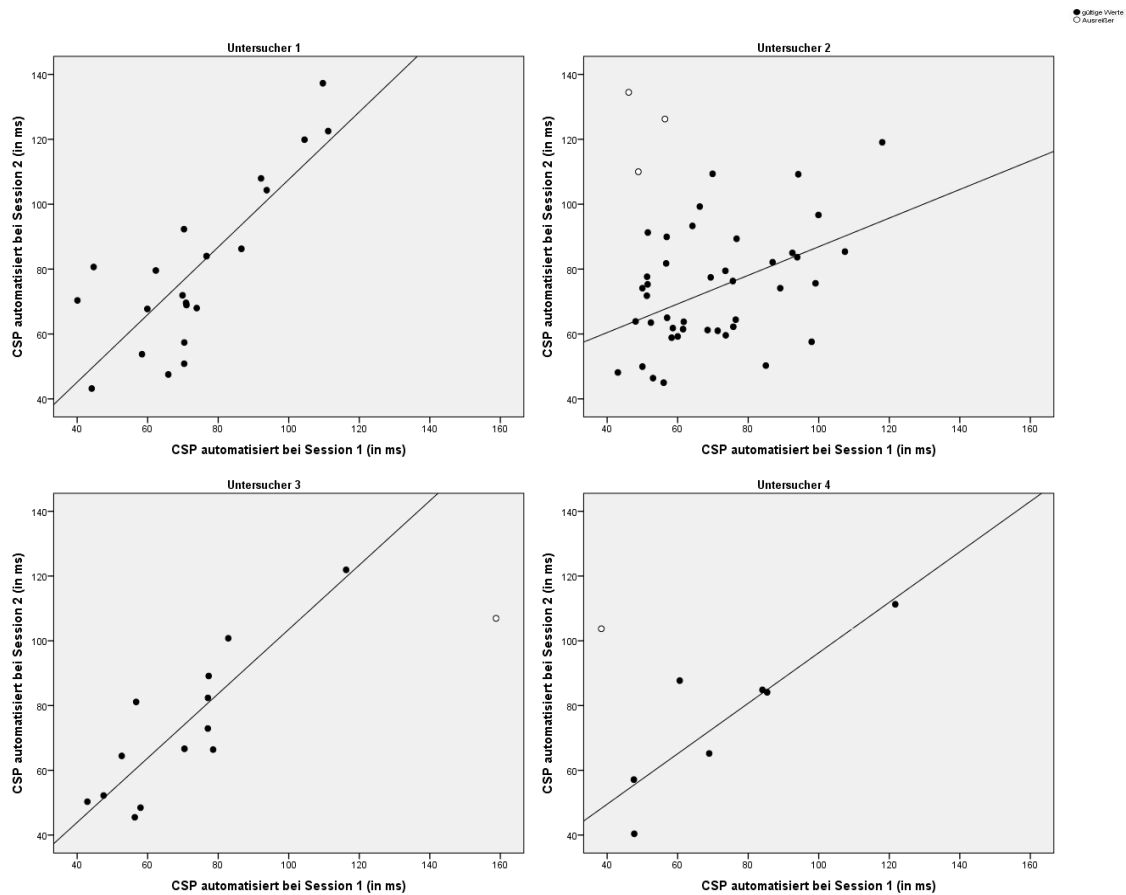


Abbildung 10: Korrelationen für die automatisiert bestimmte Cortical Silent Period (CSP automatisiert) für die einzelnen Untersucher (n=4).

Untersucher 1: $r=.809$, $p<.001$, $n=21$ vs. Untersucher 2: $r=.461$, $p<.05$, $n=42$ vs. Untersucher 3: $r=.863$, $p<.001$, $n=13$ vs. Untersucher 4: $r=.873$, $p<.05$, $n=7$

Schwarze Punkte: in der Korrelation enthaltene Probanden

Weißer Punkte: aus der Auswertung genommene Ausreißer

3.2 Anzahl der Untersuchungen - Übungseffekt

Im Folgenden werden die Korrelationen der einzelnen Untersucher erneut angegeben. Im Gegensatz zum voran Beschriebenen wurden diesmal die Messungen in fünf Schritten kumulativ zusammengefasst. Somit soll veranschaulicht werden wie sich die Korrelationen mit wachsender Erfahrung der Untersucher verhalten.

Untersucher 1:

Wie in Tabelle 6 dargestellt zeigten TR und RMT unabhängig von der Anzahl der Untersuchungen konstante Korrelationen. Dagegen wiesen SICI und die beiden CSPs initial die besten Korrelationen mit anschließend leicht reduzierten, aber konstanten Korrelationen bei zunehmender Messanzahl auf. Die ICF zeigte konstant über alle Messungen hinweg keinen Zusammenhang zwischen beiden Sessions.

Tabelle 6: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit der Untersuchungsanzahl für Untersucher 1

Parameter	Nach Messungen	5 Nach Messungen	10 Nach Messungen	15 Nach Messungen	Nach allen Messungen (n=21) ¹
TR	.982 *	.986 **	.974 **	.979 **	
RMT	.958 *	.872 *	.882 **	.891 **	
SICI	.915 *	.773 *	.776 *	.738 **	
ICF	.098	.265	.318	.225	
CSP manuell	.968 *	.758 *	.671 *	.785 **	
CSP aut.	.903 *	.704 *	.662 *	.809 **	

*p<.05, **p<.001; ¹n=20 bei TR, RMT, SICI, ICF und CSP manuell; TR: Testreiz, RMT: Ruhe-Motor-Schwelle (resting motor threshold), SICI: intrakortikale Inhibition (short intracortical inhibition); ICF: intrakortikale Fazilitierung (intracortical facilitation); CSP manuell: manuell bestimmte Cortical Silent Period; CSP aut.: automatisiert bestimmte Cortical Silent Period; nach 5 Messungen: Messungen 1-5; nach 10 Messungen: Messungen 1-10; nach 15 Messungen: Messungen 1-15; nach 20 Messungen: Messungen 1-20

Untersucher 2:

Wie anhand von Tabelle 7 gut ersichtlich zeigten TR und RMT unabhängig von der Anzahl der Untersuchungen konstante Korrelationen. Die automatisiert bestimmte CSP wies im Gegensatz zur manuellen CSP relativ konstante Korrelation auf. Die manuell bestimmte CSP zeigte initial keinen Zusammenhang zwischen beiden Sessions und

damit den schlechtesten Wert aller vier Untersucher. Erst im Verlauf ließ sich eine Tendenz zur Verbesserung mit zunehmender Messanzahl erkennen ohne dass im Vergleich mit den anderen Untersuchern ähnliche Korrelationen erreicht wurden.

Tabelle 7: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit der Untersuchungsanzahl für Untersucher 2

Parameter	Nach 5 Messungen	Nach 10 Messungen	Nach 15 Messungen	Nach 20 Messungen	Nach 30 Messungen	Nach allen Messungen (n=45) ¹
TR	.881*	.941*	.880**	.870**	.859**	.897**
RMT	.876	.938**	.845**	.821**	.801**	.833**
SICI	.713	.323	.263	.350	.360	.336*
ICF	-.315	-.043	.085	.044	.055	.101
CSP manuell	.095	.228	.217	.164	.182	.397*
CSP aut.	.468	.440	.392	.358	.369*	.461*

*p<.05, **p<.001; ¹n=44 bei RMT und SICI, n=43 bei CSP manuell, n=42 bei TR, ICF und CSP aut.; TR: Testreiz, RMT: Ruhe-Motor-Schwelle (resting motor threshold), SICI: intrakortikale Inhibition (short intracortical inhibition); ICF: intrakortikale Fazilitierung (intracortical facilitation); CSP manuell: manuell bestimmte Cortical Silent Period; CSP aut.: automatisiert bestimmte Cortical Silent Period; nach 5 Messungen: Messungen 1-5; nach 10 Messungen: Messungen 1-10; nach 15 Messungen: Messungen 1-15; nach 20 Messungen: Messungen 1-20; nach 30 Messungen: Messungen 1-30; nach 45 Messungen: Messungen 1-45

Untersucher 3:

Im Vergleich zu den anderen Untersuchern zeigte die RMT bei Untersucher 3 mit zunehmender Messanzahl bessere Korrelationen, wohingegen der TR wie bei den anderen Untersuchern, unabhängig von der Anzahl der Untersuchungen, konstante Korrelationen aufwies. Die beiden CSPs deuteten konstante Korrelationen über alle Messungen hinweg an. Dagegen zeigten SICI und ICF mit schlechten Korrelationen, ohne Zusammenhang zwischen beiden Sessions, kaum Veränderungen (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit der Untersuchungsanzahl für Untersucher 3

Parameter	Nach 5 Messungen	Nach 10 Messungen	Nach allen Messungen (n=14) ¹
TR	.928 *	.931 **	.920 **
RMT	.570	.638 *	.768 *
SICI	.040	.516	.048
ICF	.415	.296	-.018
CSP manuell	.914 *	.803 *	.861 **
CSP aut.	.864	.715 *	.863 **

*p<.05, **p<.001; ¹n=13 bei TR, RMT, CSP manuell und CSP aut.; TR: Testreiz, RMT: Ruhe-Motor-Schwelle (resting motor threshold), SICI: intrakortikale Inhibition (short intracortical inhibition); ICF: intrakortikale Fazilitierung (intracortical facilitation); CSP manuell: manuell bestimmte Cortical Silent Period; CSP aut.: automatisiert bestimmte Cortical Silent Period; nach 5 Messungen: Messungen 1-5; nach 10 Messungen: Messungen 1-10; nach 14 Messungen: Messungen 1-14

Untersucher 4:

Wie bei Untersucher 1 und 2 zeigten TR und RMT unabhängig von der Anzahl der Untersuchungen konstante Korrelationen. Im Vergleich zu allen anderen fiel bei Untersucher 4 eine eindeutige Verbesserung der manuell bestimmten CSP mit zunehmender Messanzahl auf. Die automatisiert bestimmte CSP wies im Gegensatz dazu bereits nach wenigen Messungen eine starke Korrelation auf, die im weiteren Verlauf relativ konstant blieb. SICI zeigte eine stärkere Korrelation mit steigender Messanzahl (siehe Tabelle 9).

Tabelle 9: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit der Untersuchungsanzahl für Untersucher 4

Parameter	Nach 5 Messungen	Nach allen Messungen (n=8)
TR	.987 *	.930 *
RMT	.868	.849 *
SICI	.204	.673
ICF	-.403	-.391
CSP manuell	-.104	.605
CSP aut.	.973 *	.873 *

*p<.05, **p<.001; ¹n=7 bei SICI, ICF und CSP aut.; TR: Testreiz, RMT: Ruhe-Motor-Schwelle (resting motor threshold), SICI: intrakortikale Inhibition (short intracortical inhibition); ICF: intrakortikale Fazilitierung (intracortical facilitation); CSP manuell: manuell bestimmte Cortical Silent Period; CSP aut.: automatisiert bestimmte Cortical Silent Period; nach 5 Messungen: Messungen 1-5; nach 8 Messungen: Messungen 1-8

Zusammenfassend zeigten manche Parameter wie der TR und die RMT konstante Korrelation unabhängig von der Messanzahl. Dies ist daran ersichtlich, dass die Korrelationen aller Untersucher zu Beginn (nach 5 Messungen) keinen Unterschied zu den späteren Messungen aufwiesen.

Im Gegensatz dazu wiesen die beiden CSPs unterschiedliche Korrelation mit zunehmender Messanzahl auf. Die anfänglich sehr starken Korrelationen von Untersucher 1 und Untersucher 3 fielen mit zunehmender Messanzahl ab. Untersucher 2 und Untersucher 4 wiesen dagegen nach 5 Messungen vor allem bei der manuell bestimmten CSP wesentlich schlechtere Korrelationen als am Ende auf. Bei der automatisiert bestimmten CSP fällt dieser Unterschied nicht so eindeutig auf.

3.3 Einfluss des Geschlechts

Die Korrelationen für die weiblichen und männlichen Probanden sind in Tabelle 10 abgebildet.

Bei den Frauen war eine geringfügig bessere Korrelation für beide CSPs ersichtlich. Für die restlichen TMS-Parameter ließen sich keine relevanten Unterschiede aufzeigen.

Tabelle 10: Korrelationen der TMS-Parameter geschlechtsspezifisch

Parameter	Weiblich (n=36) ¹	Männlich (n=57) ²
TR	.897 **	.947 **
RMT	.869 **	.837 **
SICI	.333	.410 *
ICF	-.045	.083
CSP manuell	.681 **	.436 *
CSP aut.	.752 **	.659 **

*p<.05, **p<.001; ¹n=35 bei TR, RMT, SICI und CSP manuell, n=34 bei ICF und CSP aut.; ²n=56 bei RMT und SICI, n=55 bei CSP manuell, n=53 bei TR und ICF, n=52 bei CSP aut.; TR: Testreiz, RMT: Ruhe-Motor-Schwelle (resting motor threshold), SICI: intrakortikale Inhibition (short intracortical inhibition); ICF: intrakortikale Fazilitierung (intracortical facilitation); CSP manuell: manuell bestimmte Cortical Silent Period; CSP aut.: automatisiert bestimmte Cortical Silent Period

3.4 Einfluss des Genotyps

Die Korrelationen für beide Genotypen des *SCN1A*-Polymorphismus sehen Sie in Tabelle 11 abgebildet.

Beim Vergleich der Korrelationen in Abhängigkeit der Genotypen des *SCN1A*-Polymorphismus ließen sich keine relevanten Unterschiede zwischen beiden Genotypen nachweisen.

Tabelle 11: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit des Genotypen

Parameter	AA (n=48) ¹	GG (n=45) ²
TR	.949 **	.898 **
RMT	.909 **	.822 **
SICI	.300 *	.510 **
ICF	.215	-.037
CSP manuell	.581 **	.584 **
CSP aut.	.700 **	.697 **

*p<.05, **p<.001; ¹n=46 bei CSP manuell, n=45 bei TR, RMT, SICI und ICF, n=44 bei CSP aut.; ²n=44 bei RMT, n=43 bei TR und SICI, n=42 bei CSP manuell und CSP aut., n=41 bei ICF; TR: Testreiz, RMT: Ruhe-Motor-Schwelle (resting motor threshold), SICI: intrakortikale Inhibition (short intracortical inhibition); ICF: intrakortikale Fazilitierung (intracortical facilitation); CSP manuell: manuell bestimmte Cortical Silent Period; CSP aut.: automatisiert bestimmte Cortical Silent Period

3.5 Re-Test-Intervall zwischen beiden Sessions

Die Probanden wurden in einem medianen Abstand von 27 Tagen gemessen. Anhand des Median in zwei Intervalle aufgeteilt, zeigt Tabelle 12 einen Vergleich der Korrelationen für ein kurzes (<28 d, n=50, MW ± SD: 20,2 d ± 4,88, Range 14-27 d) und ein langes Intervall (≥28 d, n=43, MW ± SD: 49,9 d ± 30,27, Range 28-173 d).

Der Vergleich der Korrelationen in Abhängigkeit des Re-Test-Intervalls zwischen beiden Sessions zeigte konstante Korrelationen für TR und RMT für beide Intervalle.

Die manuell bestimmte CSP wies eine stärkere Korrelation während des längeren Intervalls auf, wohingegen dieser Unterschied bei der automatisiert bestimmten CSP nicht im gleichen Ausmaß auftrat.

Die Verteilung der weiblichen und männlichen Probanden war verschieden in beiden Intervallen. Im langen Intervall (≥28 Tage) ergab sich eine ausgeglichene Verteilung von 22 weiblichen und 21 männlichen Probanden. Im kurzen Intervall dagegen waren mehr als doppelt so viele Männer vertreten (36:14).

Tabelle 12: Korrelationen der TMS-Parameter in Abhängigkeit des Intervalls zwischen beiden Sessions

Parameter	<28 Tage (n=50) ¹	≥28 Tage (n=43) ²	Gesamt (n=93) ³
TR	.950 **	.902 **	.934 **
RMT	.850 **	.850 **	.851 **
SICI	.230	.532 **	.383 **
ICF	.158	-.027	.034
CSP manuell	.510 **	.687 **	.550 **
CSP aut.	.692 **	.745 **	.697 **

*p<.05, **p<.001; ¹n=49 bei RMT und SICI, n=47 bei CSP manuell, n=46 bei TR und ICF, n=45 bei CSP aut.; ²n=42 bei RMT und SICI, n=40 bei TR, ICF, CSP manuell und CSP aut.; ³n=91 bei RMT und SICI, n=89 bei CSP manuell, n=87 bei ICF, n=86 bei TR und CSP aut.; TR: Testreiz, RMT: Ruhe-Motor-Schwelle (resting motor threshold), SICI: intrakortikale Inhibition (short intracortical inhibition); ICF: intrakortikale Fazilitierung (intracortical facilitation); CSP manuell: manuell bestimmte Cortical Silent Period; CSP aut.: automatisiert bestimmte Cortical Silent Period

4 Interaktionseffekte und untersucherspezifische Unterschiede

Eine repeated measures MANOVA (n=93) mit dem Untersucher als vier-stufigen Zwischen-Subjekt-Faktor (Untersucher 1, 2, 3, 4) und Session (Session 1, 2) als Inner-Subjekt-Faktor für die TMS-Parameter (TR, RMT, SICI, ICF, manuelle CSP, automatisierte CSP) wies auf einen signifikanten Einfluss des Untersuchers hin ($F(18, 238.073)=4.07$, $p=.000$). Ein Interaktionseffekt zwischen Session und Untersucher, sowie ein Effekt für Session konnte nicht gefunden werden ($p>.05$), siehe Tabelle 13.

In der univariaten Analyse konnte der Untersuchereffekt signifikant nur für die RMT nachgewiesen werden ($F(3,89)= 5.404$, $p=.002$). Die mittleren RMT-Werte beider Sessions für alle vier Untersucher sind in Tabelle 14 dargestellt. Eine Post-hoc Analyse ergab, dass sich Untersucher 4 von Untersucher 1 und Untersucher 2 signifikant unterschied (resp. $p=.001$, $p=.003$), siehe Tabelle 15 und Abbildung 11.

Tabelle 13: Repeated measures MANOVA (n=93) mit dem Untersucher als vierstufigen Zwischen-Subjekt-Faktor (Untersucher 1, 2, 3, 4) und Session (Session 1, 2) als Inner-Subjekt-Faktor für die TMS-Parameter (TR, RMT, SICI, ICF, manuelle CSP, automatisierte CSP)

Variation	abhängige Variable	F	df1	df2	p	eta ²
Effekt: "Untersucher 1 vs. 2 vs. 3 vs. 4"	multivariate Analyse	4.07	18	238.07	.000	.223
	TR	.061	3		.980	.002
	RMT	5.40	3		.002	.154
	SICI	1.27	3		.290	.041
	ICF	.676	3		.569	.022
	CSP manuell	1.02	3		.388	.033
	CSP aut.	.069	3		.976	.002
Effekt: "Session 1 vs. Session 2"	multivariate Analyse	1.56	6	84	.170	.100
Interaktionseffekt: "Session x Untersucher"	multivariate Analyse	1.06	18	238.07	.397	.070

MANOVA: multivariate Analyse der Varianz; TR: Testreiz, RMT: Ruhe-Motor-Schwelle (resting motor threshold), SICI: intrakortikale Inhibition (short intracortical inhibition); ICF: intrakortikale Fazilitierung (intracortical facilitation); CSP manuell: manuell bestimmte Cortical Silent Period; CSP aut.: automatisiert bestimmte Cortical Silent Period

Tabelle 14: Mittlere RMT-Werte beider Sessions für alle Untersucher (n=4)

Untersucher	RMT - Session 1 (in % der max. Stimulusintensität)	RMT - Session 2 (in % der max. Stimulusintensität)
Untersucher 1	41,40	42,40
Untersucher 2	43,72	43,61
Untersucher 3	44,93	45,79
Untersucher 4	54,50	55,13

Tabelle 15: Post Hoc Analyse der RMT auf signifikante Unterschiede zwischen Untersucher 4 und den restlichen Untersuchern

Untersucher	Differenz	SD	p
Untersucher 4 – Untersucher 1	12,91	3,287	0,001
Untersucher 4 – Untersucher 2	11,15	3,099	0,003
Untersucher 4 – Untersucher 3	9,460	3,586	0,059

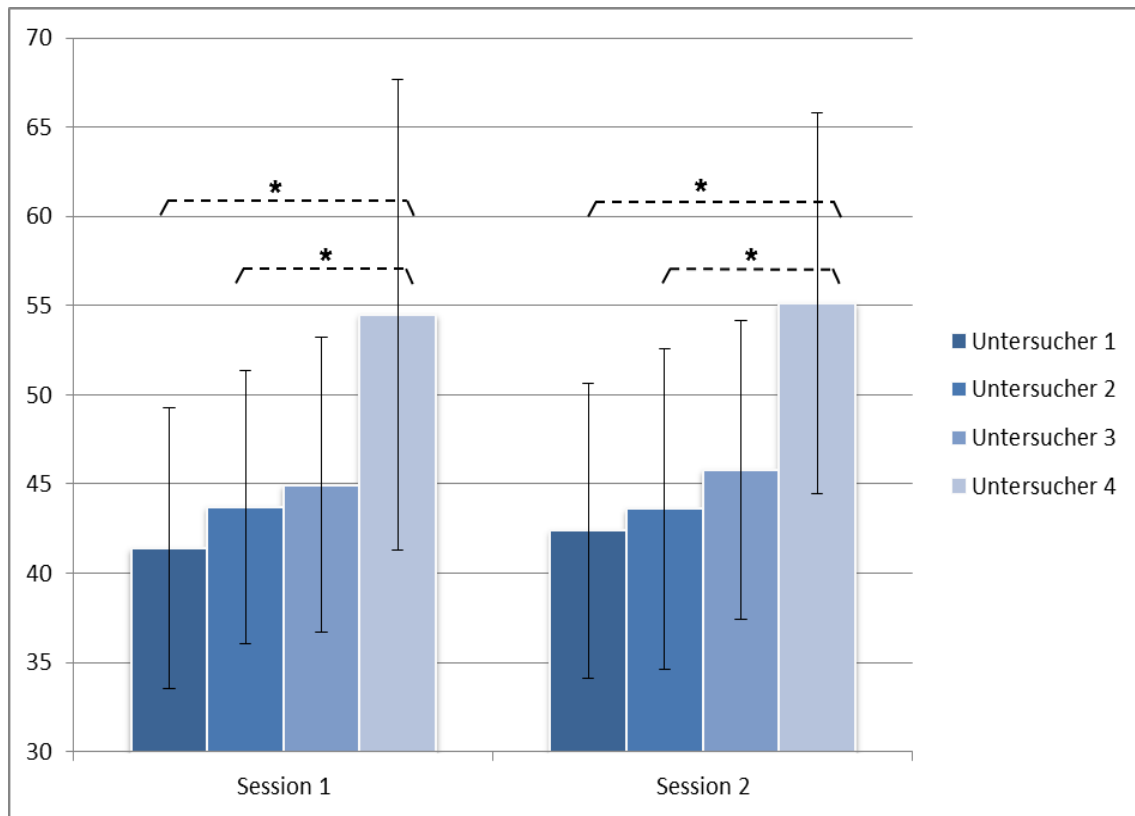


Abbildung 11: signifikant höhere RMT-Werte für Untersucher 4 im Vergleich zu Untersucher 1 und Untersucher 2 (*: $p < .05$) während Session 1 und Session 2

TEIL IV - DISKUSSION

In dieser Studie wurden die Korrelationen verschiedener in der Literatur häufig verwendeter TMS-Parameter zu zwei verschiedenen Messzeitpunkten untersucht.

Wir konnten für die RMT, gefolgt vom TR, die beste Re-Test-Reliabilität und für die CSP gute Korrelationen nachweisen. Die Re-Test-Reliabilität wurde durch verschiedene Einflussfaktoren wie z. B. Übungseffekt, Geschlecht, Genpolymorphismus, Re-Test-Intervall beeinflusst. Den stärksten Einfluss bot anhand unserer Ergebnisse der Untersucher selbst.

Im Vergleich zu anderen Studien, die ihre Datenerhebung an eher kleinen Probandenkollektiven ausübten, konnten in dieser Studie die im Rahmen des Epicure Projektes gewonnenen Daten von 93 Probanden genutzt werden. So untersuchte Borojjerdi et al. (2000) seine Reproduzierbarkeit von SICI und ICF an nur vier Probanden, andere verwendeten Probandenzahlen zwischen 10-24 (Fritz et al. 1997, Danner et al. 2008, Varnava et al. 2011, Julkunen et al. 2011, Du et al. 2014, Peri et al. 2017). Nur wenige Studien waren vergleichbar groß angelegt (Wassermann et al. 2002, Kimiskidis et al. 2004, Cacchio et al. 2009). Im Review von Beaulieu et al. (2017) über die bisherige Studienlage zum Thema Re-Test-Reliabilität hatten nur 3 Studien ein größeres Probandenkollektiv als $n > 30$.

Im Gegensatz zu dieser Arbeit entnahmen Wassermann et al. (2002) ihre Probandenzahlen verschiedenster Studien mit unterschiedlicher Fragestellung. Zur Beurteilung der Re-Test-Reliabilität der RMT konnten hierfür z.B. nur Daten von 19 Frauen, die im Rahmen des Studiendesign zu 3 Sessions gemessen wurden, herangezogen werden. Des Weiteren wurden zur Beurteilung der intrakortikalen Inhibition und Fazilitierung nicht zwei verschiedene Sessions sondern verschiedene Messzeiten (3/4ms und 10/15ms) miteinander verglichen.

Ein weiterer Vorteil dieser Studie ist das Re-Test-Intervall. Im Vergleich zu den meisten anderen Studien, die ihre Re-Test-Messung zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit innerhalb weniger Stunden oder weniger Tage durchführten (Koski et al. 2005, Sale et al. 2007, Varnava et al. 2011), wurden alle Probanden mit einem Re-Test-Intervall zwischen 14 und 173 Tagen gemessen. Der Median lag bei 27 Tagen. Ein vergleichbar langes Intervall wurde nur von wenigen untersucht (Cacchio et al. 2009,

Sankarasubramanian et al. 2015).

Meist fehlt den Studien zur Re-Test-Reliabilität eine Betrachtung möglicher Einflussfaktoren wie zirkadiane Effekte oder Untersuchereffekte und häufig fehlen genauere Angaben zur Untersuchung der Frauen oder es wurden weniger Frauen eingeschlossen (Wassermann et al. 2002, Varnava et al. 2011, Julkunen et al. 2011)

Cacchio et al. 2009 sind mit ihrer Studie mit Fokus auf Unterschieden zwischen zwei Untersuchern sowie verschiedenen Sessions vergleichbar, allerdings wird bei geringerer Probandenanzahl (n=50) keine Differenzierung zwischen den Geschlechtern sowie bei fixem Re-Test-Intervall von 4 Wochen bezüglich zirkadianer Effekte vorgenommen.

Die Studie zielt daher zusätzlich zur allgemeinen Re-Test-Reliabilität darauf ab, diese fehlenden Aspekte ausführlicher in einem großen Probandenkollektiv von Männern und Frauen zu betrachten. Außerdem wurde die visuelle und automatisierte Auswertemethoden zur Bestimmung der CSP miteinander verglichen.

1 Re-Test-Reliabilität für die einzelnen TMS-Parameter

1.1 Ruhe-Motorschwelle

Um eine sichere, effektive und reliable Verwendung der TMS erzielen zu können, ist ein geeigneter indizierter Stromfluss nötig. Eine zu starke Stimulation erhöht das Risiko bekannter Nebenwirkungen (Rossi et al. 2009), reduziert die Fokussierung der induzierten Erregung (Thielscher et al. 2004) und erhöht die Wahrscheinlichkeit einer indirekten Stimulation tieferliegender Hirnstrukturen (Paus et al. 1997). Eine zu niedrige Stimulation dagegen reduziert die Effektivität eines vorgegebenen klinischen Verfahrens (Mosimann et al. 2002). Zur Bestimmung dieses geeigneten Levels der Stimulationsintensität dient die „motorische Schwelle“, die eine Maßeinheit der kortikalen Erregbarkeit darstellt. Die Bestimmung der individuellen motorischen Schwellen ist ein grundlegendes Verfahren in den meisten TMS-Studien. Dieser Wert bestimmt die Baseline der kortikalen Erregbarkeit, auf dem basierend die nachfolgenden Parameter z.B. der intrakortikalen Inhibition und Fazilitierung bestimmt werden.

Es konnte gezeigt werden, dass bei wiederholten Messungen eines einzelnen Probanden

die motorische Schwelle am stabilsten bleibt (Danner et al. 2008).

1.1.1 Re-Test-Reliabilität

Seit der Einführung und zunehmenden Verwendung der TMS zeigten die motorischen Schwellen wiederholt hohe Re-Test-Reliabilitäten (Mortifee et al. 1994, Traversa et al. 1998, Maeda et al. 2002, Wolf et al. 2004, Cacchio et al. 2009, Ngomo et al. 2012).

Anhand der Daten dieser Studie kann dies ebenfalls bestätigt werden. Im Vergleich zu allen anderen TMS-Parameter zeigte die RMT mit $r=0.85$ stets die besten Korrelationen und ist mit der von Wassermann et al. (2002) angegebenen Korrelation von $r=0.82$ vereinbar. Die von Varnava et al. (2011) beschriebene Korrelation bis $r=0.98$ konnte dagegen nicht erreicht werden. Ursachen hierfür könnten die im Vergleich zu Varnava et al. (2011) wesentlich größere Probandenanzahl ($n=93$ vs. $n=24$), das längere Zeitintervall zwischen beiden Sessions (34d vs. 53h) und die Versuchsdurchführung durch verschiedene Untersucher sein. Zudem unterschieden sich die Methoden zur Bestimmung der RMT. In Varnavas Studie von 2011 wurde die „observation method“ angewandt. Bei dieser Methode wird die RMT nicht mittels EMG-Ableitung (EMG-Reaktion $>50 \mu V$) (Rossini et al. 1994), sondern durch die Beobachtung von Zuckungen eines vordefinierten Muskels der kontralateralen Hand (OM) (Pridmore et al. 1998) bestimmt.

Da in einigen Studien diese OM Variante bevorzugt eingesetzt wird, wurde ein Vergleich mit der bereits in den ersten TMS-Studien verwendeten Methode mittels EMG-Ableitungen von MEPs des ruhenden Muskels des abductor pollicis brevis (Barker et al. 1985) zur Bestimmung der MT notwendig. Bei widersprüchlicher Studienlage ist bisher nicht eindeutig geklärt, welche Messmethode zur Bestimmung der MT besser geeignet ist. Während eine Studie signifikante Unterschiede beobachtet hat (Conforto et al. 2004), konnte eine andere dagegen kaum Unterschiede zwischen beiden Methoden feststellen (Balslev et al. 2007). Eine neuere Studie beschäftigte sich mit der Frage, ob durch die Verwendung von Navigationssystemen die Variabilität der MEP-Amplituden verringert und somit deren Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Untersuchungszeitpunkten erhöht werden kann. Durch die navigierte TMS, mit deren Hilfe eine Stimulationsstelle mit einer Genauigkeit von 2,5 mm wieder aufgefunden und die Spulenposition bei geringer räumlicher Divergenz während der Stimulation beibehalten werden kann, konnte keine besserer Reproduzierbarkeit der MEP-Amplituden erreicht werden (Jung et al. 2010).

In vorangegangenen Studien bezüglich der Reproduzierbarkeit der TMS stellte ebenfalls die RMT den stabilsten Parameter dar. Andere Autoren nahmen unterschiedliche Berechnungen vor, kamen aber insgesamt auf vergleichbare Ergebnisse (Koski et al. 2005, Danner et al. 2008, Cacchio et al. 2009). Koski et al. (2005) berichten einen intra-Subjekt-Variationskoeffizienten von 2%-13%, gemessen als Unterschiede zwischen sieben Messungen innerhalb von zehn Stunden. Danner et al. (2008) beschreibt mit seinen Ergebnissen von 3,1-6,1% ebenfalls eine stabile MT in mehreren Sessions über eine längere Zeitspanne hinweg.

Bei Vergleichsstudien zwischen gesunden und Schlaganfallpatienten konnten ähnliche Re-Test-Reliabilitäten gezeigt werden (mit Ausnahme der MEP-Amplituden auf der paretischen Seite der Patienten), sodass die RMT auch bei Patienten als stabiler und zuverlässiger Parameter anzusehen ist (Cacchio et al. 2011). Liu et al. (2014) konnte sogar bessere Re-Test-Reliabilitäten bei Schlaganfallpatienten sowohl auf der kranken als auch gesunden Seite im Vergleich zu gesunden Probanden beobachten.

1.1.2 Inter-Subjekt-Variabilität

Wie bereits von anderen Autoren beschrieben zeigt die RMT eine starke Variabilität zwischen den einzelnen Probanden (Inter-Subjekt-Variabilität). Der Range lag an beiden Sessions zwischen 29-71% (angegeben in Prozent der maximalen Stimulusintensität) und der Variationkoeffizient der Inter-Subjekt-Variabilität betrug an beiden Sessions 20%. Diese Ergebnisse stimmen mit vorangegangenen Studien überein, vor allem mit dem von Wolf et al. (2004) berichteten Variationskoeffizient getrennt nach Hemisphären von 17,7% und 20,7%. Bereits 1994 gaben Mortifee et al. ähnliche Variationskoeffizienten mit 14%-37% für die MT an.

1.2 Intrakortikale Inhibition und Fazilitierung

Die bisherige Studienlage veranschaulicht, dass die Reproduzierbarkeit der kortikalen Inhibition und Fazilitierung problematisch ist (Boroojerdi et al., 2000; Maeda et al., 2002; Orth et al., 2003, Sankarasubramanian et al. 2015, Schambra et al. 2015, Fried et al. 2017)

1.2.1 Re-Test-Reliabilität

Im Vergleich zu den anderen Parametern ergeben sich für die intrakortikale Inhibition (SICI, am ISI 3 ms) eher nur mäßige Zusammenhänge, während die intrakortikale Fazilitierung (ICF bei ISI 10 ms) keine signifikanten Korrelationen zeigt.

Wenn auch im Vergleich zu den restlichen TMS-Parametern die Korrelationskoeffizienten bei der intrakortikalen Inhibition und Fazilitierung die schlechtesten Werte hatten, geben sie doch den Trend der bisherigen Studienlage wieder (Maeda *et al.*, 2002; Fleming *et al.* 2012, Schambra *et al.* 2015).

Fried *et al.* (2017) verglichen gesunde Probanden mit Typ 2 Diabetikern und Alzheimer Patienten. Bei gesunden älteren Probanden (im Mittel 63Jahre alt) wurden Korrelation von 0.71 für SICI und 0.25 für ICF beschrieben. Auch in neueren Studien konnten bei Schizophrenieerkrankten, bei denen eine reduzierte intrakortikale Inhibition beobachtet wurde, akzeptable Re-Test-Reliabilitäten für SICI (Du *et al.* 2018) gezeigt werden.

Eine mögliche Erklärung für die schlechtere Reproduzierbarkeit liegt in ihrer Bestimmung durch die dynamische Balance zwischen Hemmung und Erregung des Motorkortex (Ni und Chen 2008). Das Zusammenspiel zugrundeliegender neuronaler Prozesse beeinflusst zu einem großen Maße deren Reproduzierbarkeit. SICI wird hauptsächlich vom GABA-A-Rezeptor vermittelt, während ICF sowohl vom NMDA- als auch vom GABA-Rezeptor beeinflusst wird (Ziemann 2004; Ziemann *et al.* 2015).

Aufgrund der multiplen Beeinflussung der ICF scheinen diese weniger stabil zu sein (Du *et al.* 2018).

1.2.2 Inter-Subjekt-Variabilität

Die Variationskoeffizienten der intrakortikalen Inhibition und Fazilitierung weisen ebenfalls eine große Inter-Subjekt-Variabilität auf. Dadurch ist ihre Fähigkeit, zerebrale Effekte darzustellen, eingeschränkt. Veränderte SICI oder ICF konnten bei einer Reihe neuropsychiatrischer Erkrankungen wie Epilepsie, Parkinson-Erkrankung, Alzheimer-Erkrankung, Tourette-Syndrom und Schizophrenie beobachtet werden (Du *et al.* 2014).

Vor allem für die SICI scheint eine größere Inter-Subjekt-Variabilität zu bestehen, die auch durch unsere Daten wiedergespiegelt werden kann. Die Variationskoeffizienten für SICI lagen bei beiden Sessions (Session 1: 75,7%, Session 2: 77,8%) deutlich über denen der ICF (Session 1: 27,7%, Session 2: 23,0%). Andere Studien zeigten vergleichbare Werte und bezifferten ihre Variationskoeffizienten von 79,3% für SICI und 29,9% für ICF (Wassermann *et al.* 2002) oder leicht reduziert mit 67% für SICI und

21% für ICF (Boroojerdi et al. 2000).

Boroojerdi et al. (2000) untersuchte die Reproduzierbarkeit von SICI und ICF mithilfe des „paired pulse“ Paradigmas an vier gesunden Probanden durch drei Untersucher an drei verschiedenen Sessions. Anhand ihrer Daten konnten sie eine hohe Inter-Subjekt-Variabilität im Vergleich zur Inter-Session- und Inter-Untersucher-Variabilität aufzeigen. Bei beschriebener Reduktion der Inter-Session-Variabilität durch eine zunehmende Anzahl gemessener MEPs (trials per ISI) (Boroojerdi et al. 2000), verwendeten Maeda et al. (2002) zehn trials per ISI. In unserer Studie wurden Daten anhand von 15 trials per ISI erhoben. Eine aktuellere Studie unter Verwendung der Neuronavigation benennt die Mindestanzahl an trials zur Erhebung reliabler SICI und ICF auf 20 und 25 (Chang et al. 2016).

Zur Beurteilung der Inter-Session-Variabilität von SICI und ICF wurden in den vorangegangenen Studien unterschiedliche ISIs verwendet (Boroojerdi et al., 2000; Maeda et al., 2002). Fleming et al. (2012) verwendeten in ihrer Studie ISIs von 2,5 ms für SICI und ISIs von 12,5 ms für ICF und konnten hierbei hohe Korrelationen für SICI (>0.87) und deutlich schlechtere für ICF (<0.30) erheben. Zur systematischen Beurteilung der Re-Test-Reliabilität dieser paired pulse TMS-Messungen nahmen Du et al. (2014) eine umfangreiche Untersuchung hinsichtlich verschiedener ISIs (14 ISIs von 1-500ms) vor und fanden moderat bis gute Re-Test-Reliabilitäten bei ISIs von 1 und 3ms für SICI und 12, 15, 18 und 21 ms für ICF.

Die Auswahl der Intensitäten des konditionierenden und Test-Stimulus können ebenfalls einen Einfluss auf Reliabilität haben. Häufig wurde für den konditionierenden Stimulus 80% der RMT verwendet (Kujirai et al. 1993; Maeda et al. 2002; Orth et al. 2003). Die Festlegung des Test-Stimulus erfolgte in den Studien entweder in Abhängigkeit der RMT (z.B. 120% RMT) oder wie in unserer Studie mittels des Test-Reizes, der eine MEP-Amplitude von 1mV erzeugte. In der von Hashemirad et al. (2017) vorgenommenen Studie konnten ähnliche Reliabilitäten bezüglich dieser beiden Testverfahren beobachtet werden. Bei erneuter Bestätigung einer Steigerung der Re-Test-Reliabilität mit zunehmender Anzahl der trials, erbrachte der Ausschluss der ersten 3-5 Einzelmessungen/MEPs aus der Auswertung keine Verbesserung (Hashemirad et al. 2017).

1.3 Cortical Silent Period

1.3.1 Re-Test-Reliabilität

Die aktuelle Studienlage zur Beurteilung der Re-Test-Reliabilität der Cortical silent period ist sehr heterogen, da große Unterschiede sowohl in der Probandenanzahl als auch Vorgehensweise bestehen (Beaulieu et al. 2017). Vor allem sind hierbei der Spulentyp und Stärke des Test-Stimulus zu erwähnen. Säisänen et al. (2008) untersuchte dazu explizit den Einfluss der Stimulationsintensität sowie willkürlichen Vorinnervation des Zielmuskels und kam zum Schluss, dass die stabilsten und informativsten Werte bei einer Stimulation von 110–120% der RMT und ca. 50% Vorinnervation zu erreichen sind. Andere Autoren beschreiben keine Beeinflussung durch das Ausmaß der Vorinnervation (Kojima et al. 2013).

Anhand der vorliegenden Studie kann wie bereits in vorangegangenen Studien eine gute Korrelation für die Cortical Silent Period bestätigt werden (Kukowski et al. 1992, Fritz et al. 1997, Daskalakis et al. 2003, Orth et al. 2004, Damron et al. 2008, Säisänen et al. 2008). Im Vergleich zur RMT zeigt sich, dass die CSP etwas schlechter reproduzierbar ist. Trotz einer starken Inter-Subjekt-Variabilität können aber gute Korrelationen zwischen beiden Sessions beobachtet werden.

Bereits die Daten von Fritz et al. (1997) geben Korrelationen von 0.77-0.96 an. Der Range dieser Werte ergibt sich daraus, dass zusätzlich der Einfluss unterschiedlicher Untersucher beobachtet wurde. Die eine Hälfte wurde nur durch einen Untersucher und die andere Hälfte durch drei verschiedene Untersucher gemessen. Die Probanden, die nur durch einen Untersucher gemessen wurden, zeigten höhere Korrelation als die Messungen, die durch verschiedene Untersucher vorgenommen wurden. Im Vergleich dazu betragen die Korrelationen in der vorliegenden Studie $r=0.55$ für die manuell bestimmte CSP und $r=0.697$ für die automatisiert bestimmte CSP. Einzelne Untersucher separat betrachtet erreichten stärkere Korrelationen mit bis zu $r=0.87$.

In anderen Studien werden ähnliche gute Re-Test-Reliabilitäten beschrieben (Cacchio et al. 2009, Liu et al. 2014, Peri et al. 2017). Liu et al. (2014) konnten in ihrer Vergleichsstudie diese Ergebnisse ebenfalls bei Schlaganfallpatienten beobachten.

1.3.2 Inter-Subjekt-Variabilität

Die CSP unterliegt einer ausgesprochen starken Inter-Subjekt-Variabilität, die mit einer

Spannbreite von 44-258ms angegeben wird (Fritz et al. 1997). Anhand der gewonnenen Daten können diese Angaben weitgehend bestätigt werden (range 48-193ms). Die Inter-Subjekt-Variationskoeffizienten für beide Methoden zur Bestimmung der CSP von 32% und 27% (Session 1) sowie 30% und 28% (Session 2) sind ebenfalls mit der zuvor genannten starken Inter-Subjekt-Variabilität vereinbar.

1.3.3 Vergleich manuelle vs. automatisierte Methode zur Bestimmung der CSP-Dauer

Obwohl das der CSP zugrunde liegende Konzept weitgehend akzeptiert wird, werden verschiedene Definitionen für Beginn und Ende verwendet. Diese Vielfalt an CSP-Definitionen hat unmittelbare Auswirkung auf die Dauer. Die CSP als Parameter zur Beurteilung von Veränderungen der intrakortikalen Inhibition kann entweder in der Forschung oder zur Verlaufskontrolle nach klinischen Therapien benutzt werden. Hierbei ergibt sich jedoch ein wichtiger Nachteil, der mit den Schwierigkeiten einer genauen Messung der CSP-Dauer anhand von EMG-Daten verbunden ist. Bereits Garvey et al. (2001) veranschaulichten diese Problematik gut mithilfe vorangegangener Studien zur Untersuchung der CSP-Dauer bei Parkinsonpatienten, bei denen unterschiedliche Definitionen für die Anfangs- und Endpunkte subjektiv anhand der visuellen EMG-Ableitung gewählt wurden.

Häufige, von verschiedenen Studien genutzte Definitionen für den Beginn der CSP sind: 1. Beginn der TMS, 2. TMS-Artefakt, 3. Beginn des stimulationsinduzierten MEP, 4. Ende des stimulationsinduzierten MEP, 5. Zeitpunkt, wenn die EMG-Aktivität unterhalb der Prä-Stimulus-Aktivität fällt. Definitionen für das Ende der CSP beinhalten 1. das erstmalige Wiederkehren einer EMG-Aktivität, 2. vollständiges Wiederkehren der Prä-Stimulus EMG-Aktivität, 3. Zeitpunkt, wenn das EMG sich nicht mehr signifikant vom Prä-Stimulus EMG-Level unterscheidet (Rábago et al. 2009). Des Weiteren wurden untersucherabhängige Variationen der CSP-Dauer bis 22ms beschrieben (Nilsson et al. 1997, Garvey et al. 2001).

Das Fehlen einer standardisierten Auswertemethode der CSP-Dauer erschwert den Vergleich verschiedener Studien miteinander, sodass die Entwicklung einer standardisierten Bestimmung der CSP-Dauer als notwendig angesehen wurde.

Die in der Vergangenheit entwickelten automatisierten Verfahren zur Auswertung der CSP (Nilsson et al. 1997, Garvey et al. 2001, Daskalakis et al. 2003, King et al. 2006, Julkunen et al. 2013) zeigen jedoch ebenfalls einige Unterschiede in der Bestimmung der Anfangs- und Endpunkte. Die Methode von Nilsson et al. (1997) und Garvey et al.

(2001) verwendete die Prä-Stimulus EMG-Aktivität zur Bestimmung des Anfangs- und Endpunktes der CSP. Daskalakis et al. (2003) nahmen eine Weiterentwicklung vor, sodass der Beginn des MEP als CSP-Beginn galt und benutzten die Prä-Stimulus EMG-Aktivität zur Bestimmung des Endes. Da sich die Post-CSP EMG-Aktivität aber auch von der Prä-Stimulus EMG-Aktivität unterscheiden kann und in diesen Fällen nicht zur Verwendung als Referenzniveau geeignet ist (Rábago et al. 2009) entwickelten Julkunen et al. 2013 eine Methode unabhängig von der Prä-Stimulus EMG-Aktivität.

In der vorliegenden Studie wurde die CSP manuell und automatisiert ausgewertet. Da die Daten aus dem Epicure Projekt stammen, verwendeten wir damals eine automatisierte Auswertemethode noch basierend auf der von Garvey et al. (2001) beschriebenen Methode, die, wie sich im Späteren gezeigt hat, einige Limitationen aufweist.

Die automatisiert bestimmte CSP wies im Gegensatz zur manuellen Methode stets kürzere CSP-Dauern auf. Ursache hierfür war der im Algorithmus festgelegte spätere Beginn der CSP erst nach dem Einsetzen des stimulationsinduzierten MEP im Vergleich zur manuell bestimmten CSP mit Beginn zum Zeitpunkt des stimulationsinduzierten MEP. Bei der manuellen Auswertemethode war die Re-Test-Reliabilität stark untersucherabhängig. Es zeigten sich Korrelationen von $r=0.40$ bis $r=0.86$. Ursache hierfür ist vermutlich neben der Messung selbst die Auswertung, bei der das Wiederauftreten der EMG-Aktivität als Ende der CSP von den einzelnen Untersuchern unterschiedlich beurteilt wurde. Für die automatisierte Methode waren untersucherabhängige Unterschiede weniger ausgeprägt und die Re-Test-Reliabilität insgesamt besser ($r=0.697$ vs. $r=0.550$).

Ähnliche Ergebnisse liefert die Betrachtung des individuellen Übungseffektes von Untersucher 2. Nach Bestimmung der Korrelationen in kumulativen fünfer Schritten mit zunehmender Messanzahl verdeutlichte sich hier, dass initial (nach wenigen Messungen) kein Zusammenhang zwischen beiden Sessions bestand. Erst mit zunehmender Messanzahl erreichte der Untersucher mit der manuellen Methode eine schwache Korrelation. Unter Zuhilfenahme der automatisierten Methode fiel auf, dass die mit der manuellen Methode erst zuletzt erreichte schwache Korrelation bereits von Beginn an, relativ konstant, bis zum Schluss hin bestand. Die automatisierte Methode scheint also zumindest bei diesem Untersucher weniger abhängig von dessen Erfahrung zu sein.

Trotz dieser Möglichkeit der automatisierten CSP-Bestimmung beschäftigen sich die meisten Autoren weiterhin mit der manuellen Methode. Nur wenige nutzten bisher eine automatisierte Auswertung, obwohl sehr gute Re-Test-Reliabilitäten hierfür beschrieben wurden (Nilsson et al. 1997, Garvey et al. 2001, Daskalakis et al. 2003, King et al. 2006, Julkunen et al. 2013). Die Befürworter der manuellen Methode geben an, dass diese, wenn auch zeitaufwendig, es ihnen ermöglicht, die Daten auf Fehler, Variabilität oder Muster innerhalb eines Subjekts oder einer Gruppe hin zu durchsuchen.

Individuelle Fehlerquellen scheinen zur besseren Vergleichsmöglichkeit der CSP durch die Nutzung einer automatisierten Auswertemethode der CSP reduziert werden zu können. Da in neueren Studien gezeigt wurde, dass die Prä-Stimulus EMG-Aktivität nicht bedingungslos als Referenzniveau genutzt werden kann, ist die von uns genutzte Methode nicht als endgültige Lösung anzusehen, gibt aber doch einen Trend wieder. In Zukunft wäre eine weitere Optimierung notwendig, damit zur besseren Vergleichbarkeit verschiedener Studien über den generellen Einsatz einer automatisierten Auswertemethode der CSP nachgedacht werden kann.

2 Einfluss unterschiedlicher Faktoren auf die Re-Test-Reliabilität

2.1 Untersucherabhängigkeit

Wie bereits zuvor erwähnt, unterliegt die Auswertung einzelner TMS-Parameter, besonders der CSP, starken untersucherabhängigen Unterschieden. Doch nicht nur die Auswertung im Anschluss, sondern die Untersuchung selbst unterliegt starken untersucherabhängigen Unterschieden. Die erhobenen Daten bestätigen die bisherige Studienlage. Wie bereits eingangs beschrieben stellt die RMT den stabilsten Parameter mit einer hohen Reproduzierbarkeit dar. Unabhängig vom Untersucher oder eines Untersucherwechsels zwischen beiden Sessions zeigte die RMT die stärkste und stabilste Korrelation mit $r > 0.76$. Bei den absoluten Werten der von den einzelnen Untersuchern gemessenen RMT fiel aber auch auf, dass die einzelnen Untersucher verschieden gemessen haben. Dieser nachgewiesene Untersuchereffekt zeigte sich einzig für die RMT. Von den vier verschiedenen Untersuchern hat einer signifikant höhere Werte gemessen. Da diese Unterschiede bei beiden Sessions gleich auftraten,

waren die Korrelationen der einzelnen Untersucher separat betrachtet unbeeinträchtigt geblieben.

Wie bereits von Boroojerdi et al. (2000) beschrieben, wies der Untersucher einen Einfluss auf die kortikale Inhibition und Fazilitierung auf. Anhand seiner Untersuchungen mit drei Untersuchern und einer sehr geringen Probandenanzahl ($n=4$) konnte eine starke Untersucherabhängigkeit festgestellt werden. Die Untersuchervariabilität war mit 17,3% für die SICI signifikant, für die ICF nicht signifikant. Anhand der Daten der vorliegenden Studie können diese Ergebnisse bestätigt werden. Für ICF schwankten die Korrelationen nicht signifikant zwischen $r=0.23$ und $r=-0.4$. Für SICI ergaben sich dagegen zum einen bessere Korrelationen, aber auch größere Unterschiede zwischen den einzelnen Untersuchern mit Werten zwischen $r=0.74$ und $r=0.05$. Insgesamt zeigte sich für die SICI die größte Untersucherabhängigkeit.

Eine weitere Untersucherabhängigkeit in dieser Studie veranschaulichten beide verwendeten Methoden zur Bestimmung der CSP. Sowohl der Wechsel des Untersuchers während beider Sessions, als auch die einzelnen Untersucher separat betrachtet wiesen starke Unterschiede der Korrelationen auf. Bereits 1997 führten Fritz et al. (1997) Untersuchungen zu diesem Thema hinsichtlich einer untersucherabhängigen Re-Test-Reliabilität der CSP durch. Die Datenerhebung erfolgte im Vergleich zu Boroojerdi et al. (2000) an einer größeren Probandenanzahl. Verglichen wurde eine Gruppe, deren Probanden dreimal durch den gleichen Untersucher gemessen wurden, mit einer anderen Gruppe, in der alle Probanden jeweils einmal durch drei verschiedene Untersucher gemessen wurden. Ein Vergleich der Korrelationen zwischen gleichen Untersuchern während allen Sessions und verschiedenen Untersuchern ergab in Übereinstimmung mit den Daten der vorliegenden Arbeit eine bessere Re-Test-Reliabilität, wenn alle Untersuchungen durch den gleichen Untersucher vorgenommen wurden. Kongruente Ergebnisse berichten auch Cacchio et al. (2009), die bei allen Untersuchungsparametern insgesamt niedrigere Korrelationen bei unterschiedlichen Untersuchern fanden.

Fritz et al. (1997) berichtet hierbei von Korrelationen beim gleichen Untersucher ($n=15$) >0.9 und bei verschiedenen Untersuchern ($n=13$) von 0.77-0.89. Die aktuellen Daten weisen nicht so starke Korrelationen auf, was eventuell in der unterschiedlichen Probandenanzahl pro Gruppe begründet sein könnte.

Aufgrund des Studiendesign war man bemüht möglichst alle Probanden an beiden

Sessions durch die gleichen Untersucher zu messen. Daher ergab sich eine ungleiche Verteilung der Gruppen mit Probanden, die durch gleiche Untersucher vs. verschiedene Untersucher gemessen wurden (n=88 vs. n=5). Basierend auf diesem Gruppenmissverhältnis ist ein Vergleich miteinander nur eingeschränkt möglich.

Insgesamt scheint der Untersucher einen größeren Einfluss auf die Re-Test-Reliabilität als die Auswertungsmethode zur Bestimmung der CSP-Dauer zu haben. Kimberley et al. (2009) konnten, darauf Bezug nehmend, keine Beeinflussung der CSP-Reliabilität durch unterschiedliche Auswerter beobachten. Nach kurzer Einarbeitung in die Auswertekriterien konnten 2 Unerfahrene gleichwertige Ergebnisse wie ein Erfahrener erreichen. Ähnliche Ergebnisse zeigten auch Damron et al. 2008 und Julkunen et al. 2013 zwischen ihren verschiedenen Untersuchern sofern im Voraus klare Definitionen zur Bestimmung der CSP getroffen wurden. Anhand unserer Studie kann diesbezüglich keine Aussage getroffen werden, da die Untersucher nicht alle Messungen, sondern nur die eigenen CSP-Messungen ausgewertet haben.

Daraus schlussfolgernd kann eine bessere Re-Test-Reliabilität erzielt werden, wenn wiederholte Untersuchungen durch den gleichen Untersucher durchgeführt werden. Die Verwendung einer automatisierten Auswertung der CSP bietet eher nachrangig eine Möglichkeit zur besseren Vergleichbarkeit verschiedener Studien.

2.2 Übungseffekt

Viele Untersuchungstechniken erweisen erst nach einer gewissen Anzahl an Durchführungen durch einen Untersucher glaubwürdige Ergebnisse. Somit kommt die Frage auf, ob dies ebenfalls auf TMS-Messungen zutrifft. In der Literatur wird nach bestem Wissen des Autors nirgendwo angegeben wie viele Messungen die Untersucher bereits durchgeführt haben. Außerdem ist die Probandenanzahl der einzelnen TMS-Studien sehr unterschiedlich. Viele Studien beziehen ihre Daten eher von kleinen Probandenzahlen zwischen 4 bis 24 Personen (Boroojerdi et al. 2000, Julkunen et al. 2011, Maeda et al. 2002, Fritz et al. 1997, Varnava et al. 2011). Nur wenige untersuchten vergleichbar viele Probanden (Wassermann et al. 2002).

Zur Möglichkeit einer Beurteilung der Messfähigkeiten der einzelnen Untersucher

wurden die Korrelationen der Messungen kumulativ in fünf Schritten bestimmt.

Manche Parameter, wie die bereits als stabil und untersucherunabhängig beschriebene RMT, zeigten dabei konstante Korrelationen unabhängig von der Messanzahl, sodass ein Übungseffekt hier unwahrscheinlich erscheint.

Im Vergleich dazu zeigten die Korrelationen beider CSPs Veränderungen in Abhängigkeit von der Erfahrung des Untersuchers. Im Gegensatz zur RMT kann bei der CSP nach wenigen Messungen ($n=5$) noch keine Aussage über die individuelle Re-Test-Reliabilität des Untersuchers getroffen werden. Bei 50% der Untersucher zeigten sich zu Beginn bessere Korrelationen, die mit zunehmender Messanzahl abfielen. Die anderen 50% dagegen wiesen während der anfänglichen Messungen schlechtere Korrelationen als am Ende auf. Ein Untersucher konnte hierbei seine anfänglich schlechten Korrelationen zum Ende hin ($n=44$) jedoch nicht wesentlich steigern.

Interessanterweise zeigte sich bei den beiden Untersuchern mit Verbesserung der Korrelationen der manuell bestimmten CSP im Verlauf keine so starke Veränderung der automatisierten CSP mit zunehmender Erfahrung. Hier ist anzunehmen, dass die automatisiert bestimmte CSP im Vergleich zur manuell bestimmten bereits zu Beginn ähnlich der RMT eine Aussage über die weitere Re-Test-Reliabilität zulässt. Diese Methode scheint weniger von der Erfahrung des Untersuchers abhängig zu sein.

Die Unterschiede zwischen der manuell bestimmten und der automatisiert bestimmten CSP liegen möglicherweise in der Genauigkeit der einzelnen Untersucher bei der Bestimmung des CSP-Endes. Im Vergleich zum etwas eindeutigeren Anfang der CSP, entweder mit Einsetzen des stimulationsinduzierten MEP oder danach, ist das Ende schwieriger zu bestimmen. Möglicherweise verändert sich die Einschätzung des Untersuchers mit zunehmender Erfahrung, das heißt, dass zu Beginn die Kriterien strenger als zum Ende hin umgesetzt wurden bzw. in umgekehrter Richtung.

Cacchio *et al.* (2009) zeigte in seiner Studie, dass bei 2 erfahrenen Untersuchern gute bis sehr gute Re-Test-Reliabilitäten erreichbar sind und gibt diesen Faktor auch teilweise als Begründung für diese guten Ergebnisse an.

Die aktuelle Studie weist dagegen darauf hin, dass ebenfalls unerfahrene Untersucher nach kurzer Einarbeitung durch erfahrene Kollegen gute Re-Test-Reliabilitäten für TR und RMT erreichen können.

2.3 Einfluss des Geschlechts

Diverse Studien legen einen Einfluss der weiblichen Geschlechtshormone auf die kortikale Erregbarkeit nahe (Smith et al. 1999 und 2002, Hattemer et al. 2007). Dies könnte eine mögliche Ursache der Intra- und Inter-Subjekt-Variabilität darstellen. Um diesen bisher nicht ganz eindeutig geklärten hormonabhängigen Effekt auszuschalten, wurden im Rahmen des Studiendesigns alle weiblichen Probandinnen zu einem zuvor festgelegten Zeitpunkt während ihres Menstruationszykluses gemessen.

Andere Studien legten ihren Fokus auf Unterschiede in der kortikalen Erregbarkeit zwischen den Geschlechtern. In wiederholten Studien konnte diesbezüglich kein Einfluss beobachtet werden (Wassermann et al. 2002, Cahn et al. 2003, Livingston et al. 2010, Cuypers et al. 2014).

Die Daten der vorliegenden Arbeit zeigen keinen Einfluss des Geschlechts auf die Re-Test-Reliabilität der TMS-Parameter. Einzig die CSP, vor allem in Form der manuell bestimmten Methode, zeigte geringe Unterschiede, die durch die automatisiert bestimmte Methode weitgehend aufgehoben wurden.

Das Besondere der Studie ist, dass sie, nach bestem Wissen des Autors, Daten über das größte weibliche Probandenkollektiv beinhaltet, das während ihrer follikulären Zyklusphase gemessen wurde. Da sich die Re-Test-Reliabilität der Frauen kaum von den Männern unterscheidet, liefern diese Ergebnisse wichtige Informationen für zukünftige Studien, die ebenfalls einen größeren Anteil an Frauen miteinschließen.

2.4 Einfluss des Genotyps

Beide Genotypen (GG und AA) des Polymorphismus im *SCN1A*-Gen (IVS5N+5 G -> A; dbSNP: rs3812718) wiesen für die RMT die stärkste Re-Test-Reliabilität mit $r=.95$ für AA und $r=.90$ für GG auf. Zwischen beiden Genotypen zeigten sich bezüglich der anderen gemessenen TMS-Parameter keine Unterschiede (siehe Tabelle 11). Anhand der in dieser Studie gewonnenen Ergebnisse besteht kein Unterschied in der Re-Test-Reliabilität zwischen beiden Genotypen.

2.5 Intervall

Häufig erfolgte in der Literatur die erneute Messung zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit innerhalb weniger Stunden oder weniger Tage (Koski et al. 2005, Sale et al. 2007, Varnava et al. 2011).

Anhand der gewonnenen Daten wurden mithilfe des medianen Intervalls (27 Tage) zwischen beiden Sessions zwei vergleichbar große Gruppen gebildet. Die Intervalle lagen bei mindestens 14 und maximal 173 Tagen. Beim Vergleich beider Gruppen scheint die RMT, wie bei allen bisherigen Untersuchungen auch, den stabilsten TMS-Parameter mit konstanten Korrelationen für beide Intervalle darzustellen. Dieses Ergebnis ist vereinbar mit den Untersuchungen von Kimiskidis et al. (2004), der keine Abhängigkeit der Reproduzierbarkeit der motorischen Schwellen vom Test-Re-Test-Intervall beobachtete. Auch bei Cacchio et al. (2009) blieben die motorischen Schwellen bei einem Re-Test-Intervall von 4 Wochen konstant.

Die CSP dagegen scheint eine gewisse Abhängigkeit vom Intervall aufzuweisen. Sowohl die manuell bestimmte als auch automatisiert bestimmte CSP wiesen bessere Korrelationen während des längeren Intervalls auf. Ein möglicher geschlechtsspezifischer Confounder kann bei einer relativ ausgeglichenen Verteilung der Geschlechter ausgeschlossen werden. Aufgrund des Studiendesigns mit der Untersuchung weiblicher Probanden während ihrer follikulären Phase ist ein längeres Re-Test-Intervall im Vergleich zu den männlichen Probanden unvermeidlich. Bei der Betrachtung der Daten zeigt sich aber, dass vor allem im längeren Intervall, welches eine bessere Reproduzierbarkeit der CSP zu haben scheint, kein höherer Anteil an Frauen vorliegt. Somit erscheint eine Beeinflussung durch eine ungleiche Verteilung der Geschlechter auf beide Intervalle unwahrscheinlich.

Insgesamt scheinen längere Re-Test-Intervalle mögliche Messfehler zu überschätzen, da sie verschiedene Ursachen der Variation der TMS-Ergebnisse wie Änderungen der Lebensgewohnheiten, das Erlernen sensomotorischer Fähigkeiten, die Änderung des Angstzustands und andere unbekannte Einflussfaktoren nicht berücksichtigen. Kürzere Zeitintervalle dagegen unterschätzen Messfehler, indem Sie die methodischen Variabilitätsquellen, einschließlich der Platzierung der EMG-Elektroden und der Hotspot-Bestimmung, reduzieren (Beaulieu et al. 2017).

3 Kritische Evaluation

In einer aktuellen Übersichtsarbeit von Beaulieu et al. 2017 wurden 34 Studien zum Thema der Re-Test-Reliabilität von TMS-Messungen bei gesunden Probanden verglichen. Hierbei zeigte sich, dass die aktuelle Studienlage nur schwierig zu vergleichen ist. Häufig wurden unterschiedliche Parameter, Untersuchungsbedingungen und Analyseverfahren gewählt.

Potenzielle Fehlerquellen der TMS Messung umfassen unter anderem die Elektrodenplatzierung, die Spulenposition und die Stimulationsfrequenz. Es ist bereits lange bekannt, dass die ungenaue Positionierung der Stimulationsspule eine der größten Fehlerquellen bei der Bestimmung der MT ist (Mills et al. 1992). Selbst kleinste Veränderungen der Position oder Orientierung der Spule auf der Kopfhaut können signifikante Veränderungen des induzierten elektrischen Feldes verursachen. Um eine solche Beeinflussung zu vermeiden, wurde die Spule während aller Messungen über ein Stativ konstant an ihrer Position festgehalten. Neuere Studien benutzen die Neuronavigation, um eine exaktere und reproduzierbare Spulenpositionierung zu erreichen. Jedoch ist die Studienlage hierzu nicht ganz eindeutig. Im direkten Vergleich neuronavigierter und nicht navigierter TMS-Verfahren konnten Julkunen et al. (2009) signifikant geringere MEP-Variabilitäten mittels Neuronavigation beobachten. Jung et al. (2010) dagegen zeigten keine Verbesserung unter Verwendung der Neuronavigation.

Da die Daten dieser Arbeit im Rahmen einer größer angelegten Studie mit dafür entsprechendem Studiendesign erhoben wurden, ergeben sich einige Defizite im Hinblick auf die Evaluation der Re-Test-Reliabilität. Zur Analyse des Einflusses mehrerer Untersucher wurden die Probandenanzahl für die jeweiligen Untersucher nicht gleichmäßig verteilt. Ein Untersucher hat etwa die Hälfte aller Probanden gemessen, sodass sich eine Aufteilung auf die einzelnen Untersucher von 51%, 24%, 16%, und 9% ergab. Da eine vorbeschriebene untersucherabhängige Variabilität der Messergebnisse besteht (Fritz et al. 1997), wurde darauf geachtet, dass möglichst alle Probanden an beiden Sessions durch den gleichen Untersucher gemessen wurden. Daher kann ein Unterschied zwischen gleichen Untersuchern vs. verschiedenen Untersuchern anhand dieser Daten nur eingeschränkt beurteilt werden. Es ergaben sich zwei sehr unterschiedliche Gruppengrößen mit nur fünf Probanden, die durch verschiedene Untersucher an beiden Sessions gemessen wurden.

Es wird in der Literatur kritisch diskutiert, inwieweit einige TMS Parameter durch die Tageszeit beeinflusst werden. Anhand des Studiendesigns des Epicure Projektes, aus dem die Daten dieser Untersuchung stammen, kann ein möglicher Einfluss der Tageszeit auf die Re-Test-Reliabilität nicht beurteilt werden, da alle Messungen zwischen 7 Uhr morgens und 14 Uhr durchgeführt und bei 15 Probanden, die bei Session 1 nachmittags gemessen wurden, erfolgte die Re-Test-Messung nur bei 3 Probanden ebenfalls nachmittags.

Insgesamt wurde eine solche Beeinflussung nur selten in der Studienplanung von TMS-Studien berücksichtigt. In zukünftigen Studien sollte eingehender untersucht werden, ob eine Beeinflussung der Re-Test-Reliabilität durch die Messungen zu unterschiedlichen Tageszeiten besteht.

Insgesamt verdeutlichen Beaulieu et al. (2017), wie heterogen die Methoden zwischen den Studien und ihre statistischen Auswertungen sind. Mehrere verschiedene statistische Ansätze wurden in den bisherigen Studien zur Re-Test-Reliabilität verwendet. Eine häufig verwendete Methode stellt der intraclass correlations coefficient (ICC) dar, der wiederum über verschieden Formeln berechnet werden kann und nicht immer eindeutig in den jeweiligen Studien mit angegeben wird (Beaulieu et al. 2017). Es wird behauptet, er sei sensitiv genug für systematische und zufällige Fehler (Beaulieu et al. 2017). Nur wenige Studien nutzten wie wir den Pearson correlations coefficient. Als möglicher Grund dafür wurde angegeben, dass der Pearsons Korrelationskoeffizient nur die Korrelation zwischen den Messungen erfasst, nicht aber, ob die Messungen systematisch unterschiedlich seien (Sankarasubramanian et al. 2015).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass daher die in dieser Arbeit vorgenommenen Vergleiche der Korrelationen mit anderen Studien nur in eingeschränktem Maße möglich sind.

Beaulieu et al. (2017) thematisierten weiterhin mit der Minimal Detectable Change (MDC) einen wichtigen neuen Parameter zur Beurteilung einer relevanten aufgetretenen Veränderung, um zwischen echten Unterschieden und Variationen aufgrund von Messfehlern zu unterscheiden. Das Fehlen einer angemessenen statistischen Auswertung und ein allgemeines Missverständnis des Konzepts der Zuverlässigkeit wurden von Schambra et al. (2015) näher erörtert. Sie beschreiben zwei Hauptsubtypen der Reliabilität, zum Einen den Messfehler (absolute Reliabilität), mit dem die

Übereinstimmung zwischen wiederholten Messungen in einer Person beurteilt wird und zum Anderen die Reliabilität (relative Reliabilität), die beurteilt, wie gut ein Individuum von den anderen unterschieden werden und für diagnostische Zwecke nützlich sein kann (Peri et al. 2017). Auf diesen neuen Parameter wurde in unserer Studie, deren Ergebnisse auf den Daten des Epicure Projektes beruhen, noch kein Bezug genommen.

TEIL V - ZUSAMMENFASSUNG

Deutsch

Die transkranielle Magnetstimulation (TMS) ist eine nützliche nicht-invasive Technik zur experimentellen und klinischen Untersuchung der Funktion und Dysfunktion des menschlichen Gehirns. Die steigende Popularität von TMS macht eine genauere Betrachtung der Reliabilität notwendig.

In dieser Studie wurde die Re-Test-Reliabilität der einzelnen TMS-Parameter bei einer großen Anzahl gesunder Probanden bestimmt. Dabei wurden zusätzliche Einflussfaktoren wie der Untersucher, ein Übungseffekt, das Geschlecht und die Länge des Re-Test-Intervalls separat betrachtet. Für die Auswertung der CSP wurden eine manuelle und automatisierte Auswertungsmethode miteinander verglichen.

Die Daten der vorliegenden Studie wurden im Rahmen eines größeren Projektes erhoben, in dem der Einfluss eines Polymorphismus im *SCN1A*-Gen (IVS5N+5 G -> A; dbSNP: rs3812718) auf die kortikale Erregbarkeit untersucht wurde. Die Probanden mit homozygotem Genotyp wurden in die Studie eingeschlossen und es wurden zwei Baselinemessungen durchgeführt, die im Anschluss ausgewertet wurden. Die insgesamt 93 Probanden wurden durch vier verschiedene Untersucher gemessen. Mithilfe von Einzel- und Doppelimpulsparadigmen der TMS wurden die verschiedenen TMS-Parameter Testreiz (TR), motorische Ruheschwelle (RMT), intrakortikale Inhibition (SICI) und Fazilitierung (ICF) sowie die Cortical Silent Period (CSP) bestimmt. Zur statistischen Auswertung erfolgte eine Filterung von Ausreißern. Zur Bestimmung der zu untersuchten Korrelationen wurde jeder Messparameter von Session 1 mit dem jeweiligen Wert von Session 2 verglichen und eine Korrelationsberechnung nach Pearson vorgenommen.

Obwohl das der CSP zugrundeliegende Konzept weitgehend akzeptiert wird, werden verschiedene Definitionen für den Beginn und Ende verwendet. Da die häufig verwendete manuelle Auswertemethode ein subjektives Verfahren darstellt, wurde zusätzlich eine automatisierte Methode (CSPDuration©, C. Bauer, Schopp, Deutschland) verwendet, die auf der von Garvey et al. (2001) publizierten Methode basiert.

Die Korrelationen der einzelnen TMS-Parameter verdeutlichen, dass sich für die RMT ($r=0.851$, $p<0.001$) die stärksten Re-Test-Reliabilitäten ergaben. Die CSP wies mittlere

Korrelationen auf, wobei sich ein Unterschied mit einer besseren Korrelation für die automatisiert bestimmte Methode ($r=0.697$, $p<0.001$) im Vergleich zu manuellen Methode ($r=0.550$, $p<0.001$) ergab. Für SICI ($r=0.383$, $p<0.001$) und ICF ($r=0.034$, $p=0.756$) ergaben sich schwache bis keine Zusammenhänge zwischen beiden Sessions. Wie bereits in vorangegangenen Studien gezeigt, wurde auch in diesem Fall deutlich, dass die Reproduzierbarkeit der kortikalen Inhibition und Fazilitierung problematisch ist. Bei schlechten Korrelationen ergab sich ein stärkerer Zusammenhang zwischen beiden Sessions für SICI. Dies deckt sich mit den Ergebnissen früherer Studien.

Zwischen den verschiedenen Untersuchern zeigten sich einige Unterschiede. Der TR wies über alle Untersucher hinweg gleichbleibend starke Korrelationen auf (alle $r\geq 0.9$). Die RMT erreichte bei drei von vier Untersuchern eine Korrelation von $r>0.8$, nur ein Untersucher wies im Vergleich dazu einen leicht reduzierten Wert mit $r=0.768$ auf. Anhand dieser Ergebnisse lässt sich daher keine Untersucherabhängigkeit feststellen, weder der Wechsel des Untersuchers zwischen beiden Sessions, noch der Untersucher selbst oder dessen Erfahrung führten zu Veränderungen der Korrelationen. Auffällig waren dagegen die Ergebnisse für die beiden CSPs (manuell und automatisiert bestimmt). Ihre Korrelationen schwankten zwischen stark (Untersucher 3, $r=0.861$) bis sehr schwach (Untersucher 2, $r=0.397$).

Der Vergleich der beiden Auswertemethoden für die CSP deuten darauf hin, dass die automatisierte Methode mit $r=0.697$ der manuellen Methode mit $r=0.55$ leicht überlegen zu sein scheint. Insgesamt scheint allerdings der Untersucher den größten Effekt der hier untersuchten Parameter darzustellen. Er zeigt einen größeren Einfluss auf die Re-Test-Reliabilität als die Auswertungsmethode zur Bestimmung der CSP-Dauer zu haben. Daher ergibt sich aufgrund dieser Daten die Schlussfolgerung, dass eine bessere Re-Test-Reliabilität erzielt werden kann, wenn wiederholte Untersuchungen durch den gleichen Untersucher durchgeführt werden. Die Verwendung einer automatisierten Auswertung der CSP bietet eher nachrangig eine Möglichkeit zur besseren Vergleichbarkeit verschiedener Studien. Diesbezüglich sollte daher über den generellen Einsatz einer automatisierten Auswertemethode der CSP nachgedacht werden.

Englisch

Transcranial magnetic stimulation (TMS) is a useful non-invasive technique for the experimental and clinical study of the human brain's function and dysfunction. Due to the rising popularity of TMS, a closer examination of the reliability is necessary.

In this study, the re-test reliability of the individual TMS parameters was determined for a large number of healthy subjects. Here, additional factors, such as the examiner, an exercise effect, gender and the length of the re-test interval were considered separately. For evaluation of the CSP, a manual and automated analysis method were compared to each other.

The data of the present study were collected as part of a larger project, in which the influence of a polymorphism in the gene SCN1A (IVS5N + 5 G → A; dbSNP: rs3812718) was examined on cortical excitability. The subjects with homozygous genotype were included in the study. The two accomplished baseline measurements were evaluated. Four different examiners measured the 93 subjects. By means of single and double pulse TMS paradigms, the various TMS parameters, such as teststimulus (TS), motor resting threshold (RMT), intracortical inhibition (SICI) and facilitation (ICF) as well as the cortical silent period (CSP), were determined. For statistical analysis, outliers were filtered out. In order to determine the investigated correlation, parameters from session one were compared to the respective parameters of session 2 and correlation was calculated using Pearson's product moment correlations coefficient.

Although the underlying concept of CSP is widely accepted, different definitions for the beginning and the end are used. Since the manual analysis method is a subjective process, an additional automated method (CSPDuration ©, C. Bauer, Schopp, Germany) was used based on the method published by Garvey et al. (2001).

The correlations of the individual TMS parameters show that RMT ($r=0.851$, $p<0.001$) had the strongest retest reliabilities. The CSP had average correlations. However, there was a difference with an even better correlation using the automated CSP analysis compared with manual method ($r=0.550$, $p<0.001$). For SICI ($r=0.383$, $p<0.001$) and ICF ($r=0.034$, $p=0.756$) the correlation between session 1 and 2 was weak to non-existent. As already shown in previous studies, it was confirmed that the reproducibility of the cortical inhibition and facilitation is problematic. While the correlations were poor, a stronger connection between the two sessions for SICI could be found. This coincides with the results of previous studies.

If one compares the different investigators, differences can be found. The TR had, regardless of the investigator, consistently strong correlations (all $r \geq 0.9$). The RMT reached a correlation of $r > 0.8$ with three out of four investigators. Only one investigator had a slightly lower value of $r = 0.768$. These results show that there is no examiner dependence, neither the change of the examiner between the two sessions nor the investigator himself nor his experience led to changes in the correlations. The results of both CSP (manual as well as automated), however, were conspicuous. The correlations ranged from strong (examiner 3, $r = 0.861$) to very low (examiner 2, $r = 0.397$).

The comparison of the two methods of evaluation for the CSP suggests that the automated CSP analysis with $r = 0.697$ seems to be slightly superior to the manual method with $r = 0.55$. Overall, the investigator seems to have the greatest effect on the examined parameters. He shows a greater impact on the re-test reliability than the evaluation method to determine the CSP period. Therefore, results based on these data support the conclusion that a better re-test reliability can be achieved if repeated tests are performed by the same examiner. The use of an automated CSP analysis provides more subordinated a way to facilitate comparison of different studies. With regard to that, the general use of the automated CSP analysis should be given a thought.

TEIL VI - LITERATURVERZEICHNIS

1. Anand, S. & Hotson, J. Transcranial magnetic stimulation: neurophysiological applications and safety. *Brain Cogn* 2002; 50: 366-386
2. Balslev, D.; Braet, W.; McAllister, C. & Miall, R. C. Inter-individual variability in optimal current direction for transcranial magnetic stimulation of the motor cortex. *J Neurosci Methods* 2007; 162: 309-313
3. Barker, A. T.; Jalinous, R. & Freeston, I. L. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet* 1985; 1: 1106-1107
4. Bastani, A.; Jaberzadeh, S. A higher number of TMS-elicited MEP from a combined hotspot improves intra- and inter-session reliability of the upper limb muscles in healthy individuals. *PLoS One*. 2012; 7(10): e47582
5. Beaulieu, L. D.; Flament, V. H.; Massé-Alarie, H.; Schneider, C. Reliability and minimal detectable change of transcranial magnetic stimulation outcomes in healthy adults: A systematic review. *Brain Stimul*. 2017 Mar – Apr; 10(2): 196-213
6. Boroojerdi, B.; Kopylev, L.; Battaglia, F.; Facchini, S.; Ziemann, U.; Muellbacher, W. & Cohen, L. G. Reproducibility of intracortical inhibition and facilitation using the paired-pulse paradigm. *Muscle Nerve* 2000; 23: 1594-1597
7. Boroojerdi, B.; Battaglia, F.; Muellbacher, W. & Cohen, L. G. Mechanisms influencing stimulus-response properties of the human corticospinal system. *Clin Neurophysiol* 2001; 112: 931-937

8. Brasil-Neto, J. P.; Cohen, L. G.; Panizza, M.; Nilsson, J.; Roth, B. J. & Hallett, M. Optimal focal transcranial magnetic activation of the human motor cortex: effects of coil orientation, shape of the induced current pulse, and stimulus intensity. *J Clin Neurophysiol* 1992; 9: 132-136

9. Cacchio, A.; Cimini, N.; Aloisi, P.; Santilli, V.; Marrelli, A. Reliability of transcranial magnetic stimulation-related measurements of tibialis anterior muscle in healthy subjects. *Clin Neurophysiol* 2009; 120: 414-419

10. Cacchio, A.; Paoloni, M.; Cimini, N.; Mangone, M.; Liris, G.; Aloisi, P.; Santilli, V.; Marrelli, A. Reliability of TMS-related measures of tibialis anterior muscle in patients with chronic stroke and healthy subjects. *J Neurol Sci.* 2011 Apr 15; 303(1-2): 90-4

11. Cahn, S. D.; Herzog, A. G. & Pascual-Leone, A. Paired-pulse transcranial magnetic stimulation: effects of hemispheric laterality, gender, and handedness in normal controls. *J Clin Neurophysiol* 2003; 20: 371-374

12. Cantello, R.; Gianelli, M.; Civardi, C. & Mutani, R. Magnetic brain stimulation: the silent period after the motor evoked potential. *Neurology* 1992; 42: 1951-1959

13. Cantello, R.; Tarletti, R.; Varrasi, C.; Cecchin, M.; Monaco, F. Cortical inhibition in Parkinson's disease: new insights from early, untreated patients. *Neuroscience* 2007; 150(1): 64-71

14. Capaday, C. Neurophysiological methods for studies of the motor system in freely moving human subjects. *J Neurosci Methods* 1997; 74: 201-218

15. Carroll, T. J.; Riek, S. & Carson, R. G. Reliability of the input-output properties of the cortico-spinal pathway obtained from transcranial magnetic and electrical stimulation. *J Neurosci Methods* 2001; 112: 193-202

16. Cavaleri, R.; Schabrun, S. M.; Chipchase, L. S. The number of stimuli required to reliably assess corticomotor excitability and primary motor cortical representations using transcranial magnetic stimulation (TMS): a systematic review and meta-analysis. *Syst Rev*. 2017 Mar 6; 6(1): 48

17. Chang, W. H.; Fried, P. J.; Saxena, S.; Jannati, A.; Gomes-Osman, J.; Kim, Y. H.; Pascual-Leone, A. Optimal number of pulses as outcome measures of neuronavigated transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol*. 2016 Aug; 127(8): 2892-2897

18. Chokroverty, S.; Hening, W.; Wright, D.; Walczak, T.; Goldberg, J.; Burger, R.; Belsh, J.; Patel, B.; Flynn, D. & Shah, S. Magnetic brain stimulation: safety studies. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1995; 97: 36-42

19. Claes, L.; Del-Favero, J.; Ceulemans, B.; Lagae, L.; Van Broeckhoven, C. & De Jonghe, P. De novo mutations in the sodium-channel gene SCN1A cause severe myoclonic epilepsy of infancy. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1327-1332

20. Claes, L.; Ceulemans, B.; Audenaert, D.; Smets, K.; Löfgren, A.; Del-Favero, J.; Ala-Mello, S.; Basel-Vanagaite, L.; Plecko, B.; Raskin, S.; Thiry, P.; Wolf, N. I.; Van Broeckhoven, C. & De Jonghe, P. De novo SCN1A mutations are a major cause of severe myoclonic epilepsy of infancy. *Hum Mutat* 2003; 21: 615-621

21. Classen, J.; Witte, O. W.; Schlaug, G.; Seitz, R. J.; Holthausen, H. & Benecke, R. Epileptic seizures triggered directly by focal transcranial magnetic stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1995; 94: 19-25

22. Claus, D.; Mills, K. R. & Murray, N. M. Facilitation of muscle responses to magnetic brain stimulation by mechanical stimuli in man. *Exp Brain Res* 1988; 71: 273-278

23. Cohen, L. G.; Roth, B. J.; Nilsson, J.; Dang, N.; Panizza, M.; Bandinelli, S.; Friauf, W. & Hallett, M. Effects of coil design on delivery of focal magnetic stimulation. Technical considerations. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1990; 75: 350-357

24. Cohen, D. & Cuffin, B. N. Developing a more focal magnetic stimulator. Part I: Some basic principles. *J Clin Neurophysiol* 1991; 8: 102-111

25. Conforto, A. B.; Z'Graggen, W. J.; Kohl, A. S.; Rösler, K. M. & Kaelin-Lang, A. Impact of coil position and electrophysiological monitoring on determination of motor thresholds to transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol* 2004; 115: 812-819

26. Curra, A.; Pierelli, F.; Coppola, G.; Barbanti, P.; Buzzi, M. G.; Galeotti, F.; et al. Shortened. cortical silent period in facial muscles of patients with migraine. *Pain* 2007; 132(1-2): 124-31

27. Cuypers, K.; Thijs, H.; Meesen, R. L. Optimization of the transcranial magnetic stimulation protocol by defining a reliable estimate for corticospinal excitability. *PLoS One*. 2014 Jan 24; 9(1): e86380

28. Damron, L.; Dearth, D.; Hoffman, R.; Clark, B. Quantification of the corticospinal silent period evoked via transcranial magnetic stimulation. *Journal of Neuroscience Methods*. 2008; 173: 121-128.

29. Danner, N.; Julkunen, P.; Könönen, M.; Säisänen, L.; Nurkkala, J. & Karhu, J. Navigated transcranial magnetic stimulation and computed electric field strength reduce stimulator-dependent differences in the motor threshold. *J Neurosci Methods* 2008; 174: 116-122

30. Daskalakis, Z.J.; Molnar, G.F.; Christensen, B.K.; Sailer, A.; Fitzgerald, P.B.; Chen, R. An automated method to determine the transcranial magnetic stimulation-induced contralateral silent period. *Clin Neurophysiol.* 2003 May;114(5):938-44.
31. Datta, A. K.; Harrison, L. M. & Stephens, J. A. Task-dependent changes in the size of response to magnetic brain stimulation in human first dorsal interosseous muscle. *J Physiol* 1989; 418: 13-23
32. Day, B. L.; Thompson, P. D.; Dick, J. P.; Nakashima, K.; Marsden, C. D. Different sites of action of electrical and magnetic stimulation of the human brain. *Neurosci Lett* 1987; 75:101-106
33. Devanne, H.; Lavoie, B. A. & Capaday, C. Input-output properties and gain changes in the human corticospinal pathway. *Exp Brain Res* 1997; 114: 329-338
34. DiLazzaro, V.; Restuccia, D.; Oliviero, A.; Profice, P.; Ferrara, L.; Insola, A.; Mazzone, P.; Tonali, P. & Rothwell, J. C. Effects of voluntary contraction on descending volleys evoked by transcranial stimulation in conscious humans. *J Physiol* 1998; 508: 625-633
35. DiLazzaro, V.; Oliviero, A.; Meglio, M.; Cioni, B.; Tamburrini, G.; Tonali, P. & Rothwell, J. C. Direct demonstration of the effect of lorazepam on the excitability of the human motor cortex. *Clin Neurophysiol* 2000; 111: 794-799
36. Doeltgen, S. H. and Ridding, M. C. Behavioural exposure and sleep do not modify corticospinal and intracortical excitability in the human motor system. *Clin Neurophysiol.* 2010 Mar; 121(3): 448-52
37. Du, X.; Summerfelt, A.; Chiappelli, J.; Holcomb, H. H.; Hong, L. E. Individualized brain inhibition and excitation profile in response to paired-pulse TMS. *J Mot Behav.* 2014; 46(1): 39-48

38. Du, X.; Hong, L. E. Test-retest reliability of short-interval intracortical inhibition and intracortical facilitation in patients with schizophrenia. *Psychiatry Res.* 2018 Sep; 267: 575-581
39. Ellaway, P. H.; Davey, N. J.; Maskill, D. W.; Rawlinson, S. R.; Lewis, H. S. & Anissimova, N. P. Variability in the amplitude of skeletal muscle responses to magnetic stimulation of the motor cortex in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998; 109: 104-113
40. Escayg, A.; MacDonald, B. T.; Meisler, M. H.; Baulac, S.; Huberfeld, G.; An-Gourfinkel, I.; Brice, A.; LeGuern, E.; Moulard, B.; Chaigne, D.; Buresi, C. & Malafosse, A. Mutations of SCN1A, encoding a neuronal sodium channel, in two families with GEFS+2. *Nat Genet* 2000; 24: 343-345
41. Escayg, A.; Heils, A.; MacDonald, B. T.; Haug, K.; Sander, T. & Meisler, M. H. A novel SCN1A mutation associated with generalized epilepsy with febrile seizures plus--and prevalence of variants in patients with epilepsy. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 866-873
42. Fauth, C.; Meyer, B. U.; Prosiegel, M.; Zihl, J. & Conrad, B. Seizure induction and magnetic brain stimulation after stroke. *Lancet* 1992; 339: 362
43. Fleming, M. K.; Sorinola, I. O.; Newham, D. J.; Roberts-Lewis, S. F.; Bergmann, J. H. The effect of coil type and navigation on the reliability of transcranial magnetic stimulation. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng.* 2012 Sep; 20(5): 617-25
44. Fried, P. J.; Jannati, A.; Davila-Pérez, P.; Pascual-Leone, A. Reproducibility of Single-Pulse, Paired-Pulse, and Intermittent Theta-Burst TMS Measures in Healthy Aging, Type-2 Diabetes, and Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci.* 2017 Aug 21; 9:263

45. Fritz, C.; Braune, H. J.; Pylatiuk, C. & Pohl, M. Silent period following transcranial magnetic stimulation: a study of intra- and inter-examiner reliability. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997; 105: 235-240
46. Fuhr, P.; Agostino, R. & Hallett, M. Spinal motor neuron excitability during the silent period after cortical stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1991; 81: 257-262
47. Funase, K.; Miles, T. S. & Gooden, B. R. Trial-to-trial fluctuations in H-reflexes and motor evoked potentials in human wrist flexor. *Neurosci Lett* 1999; 271: 25-28
48. Furubayashi, T.; Ugawa, Y.; Terao, Y.; Hanajima, R.; Sakai, K.; Machii, K.; Mochizuki, H.; Shiio, Y.; Uesugi, H.; Enomoto, H. & Kanazawa, I. The human hand motor area is transiently suppressed by an unexpected auditory stimulus. *Clin Neurophysiol* 2000; 111: 178-183
49. Garvey, M. A.; Ziemann, U.; Becker, D. A.; Barker, C. A. & Bartko, J. J. New graphical method to measure silent periods evoked by transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol* 2001; 112: 1451-1460
50. Gray, W. A.; Sabatier, M. J.; Kesar, T. M.; Borich, M. R. Establishing between-session reliability of TMS-conditioned soleus H-reflexes. *Neurosci Lett*. 2017 Feb 15; 640:47-52
51. Goldsworthy, M.; Hordacre, B.; Ridding, M. Minimum number of trials required for within- and between-session reliability of TMS measures of corticospinal excitability. *Neuroscience*. 2016 Apr 21; 320: 205-9

52. Gugino, L. D.; Romero, J. R.; Aglio, L.; Titone, D.; Ramirez, M.; Pascual-Leone, A.; Grimson, E.; Weisenfeld, N.; Kikinis, R. & Shenton, M. E. Transcranial magnetic stimulation coregistered with MRI: a comparison of a guided versus blind stimulation technique and its effect on evoked compound muscle action potentials. *Clin Neurophysiol* 2001; 112: 1781-1792

53. Hashemirad, F.; Zoghi, M.; Fitzgerald, P. B.; Jaberzadeh, S. Reliability of Motor Evoked Potentials Induced by Transcranial Magnetic Stimulation: The Effects of Initial Motor Evoked Potentials Removal. *Basic Clin Neurosci.* 2017 Jan; 8(1): 43-50

54. Hattemer, K.; Knake, S.; Reis, J.; Rochon, J.; Oertel, W. H.; Rosenow, F. & Hamer, H. M. Excitability of the motor cortex during ovulatory and anovulatory cycles: a transcranial magnetic stimulation study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 66: 387-393

55. Hern, J. E.; Landgren, S.; Phillips, C. G. & Porter, R. Selective excitation of corticofugal neurones by surface-anodal stimulation of the baboon's motor cortex. *J Physiol* 1962; 161: 73-90

56. Hess, C. W.; Mills, K. R. & Murray, N. M. Magnetic stimulation of the human brain: facilitation of motor responses by voluntary contraction of ipsilateral and contralateral muscles with additional observations on an amputee. *Neurosci Lett* 1986; 71: 235-240

57. Hess, C. W.; Mills, K. R.; Murray, N. M. & Schrieffer, T. N. Excitability of the human motor cortex is enhanced during REM sleep. *Neurosci Lett* 1987; 82: 47-52

58. Hess, C. W.; Mills, K. R. & Murray, N. M. Characteristics of electrical discharges by transcranial cortex stimulation activated motor units of the hand muscles of the human. *EEG EMG Z Elektroenzephalogr Elektromyogr Verwandte Geb* 1988; 19: 216-221

59. Hsieh, F. Y.; Bloch, D. A. & Larsen, M. D. A simple method of sample size calculation for linear and logistic regression. *Stat Med* 1998; 17: 1623-1634
60. Hufnagel, A.; Elger, C. E.; Durwen, H. F.; Böker, D. K. & Entzian, W. Activation of the epileptic focus by transcranial magnetic stimulation of the human brain. *Ann Neurol* 1990; 27: 49-60
61. Hömberg, V. & Netz, J. Generalised seizures induced by transcranial magnetic stimulation of motor cortex. *Lancet* 1989; 2: 1223
62. Ilic, T. V.; Meintzschel, F.; Cleff, U.; Ruge, D.; Kessler, K. R. & Ziemann, U. Short-interval paired-pulse inhibition and facilitation of human motor cortex: the dimension of stimulus intensity. *J Physiol* 2002; 545: 153-167
63. Inghilleri, M.; Berardelli, A.; Cruccu, G. & Manfredi, M. Silent period evoked by transcranial stimulation of the human cortex and cervicomedullary junction. *J Physiol* 1993; 466: 521-534
64. Julkunen, P.; Säisänen, L.; Sarasti, M. & Könönen, M. Effect of electrode cap on measured cortical motor threshold. *J Neurosci Methods* 2009; 176: 225-229
65. Julkunen, P.; Säisänen, L.; Danner, N.; Niskanen, E.; Hukkanen, T.; Mervaala, E.; Könönen, M. Comparison of navigated and non-navigated transcranial magnetic stimulation for motor cortex mapping, motor threshold and motor evoked potentials. *Neuroimage*. 2009 Feb 1; 44(3): 790-5
66. Julkunen, P.; Ruohonen, J.; Säskilahti, S.; Säisänen, L. & Karhu, J. Threshold curves for transcranial magnetic stimulation to improve reliability of motor pathway status assessment. *Clin Neurophysiol* 2011; 122: 975-983

67. Julkunen, P.; Kallioniemi, E.; Könönen, M.; Säisänen, L. Feasibility of automated analysis and inter-examiner variability of cortical silent period induced by transcranial magnetic stimulation. *J Neurosci Methods*. 2013 Jul 15; 217(1-2): 75-81
68. Jung, N.; Delvendahl, I.; Kuhnke, N.; Hauschke, D.; Stolle, S.; Mall, V. Navigated transcranial magnetic stimulation does not decrease the variability of motor-evoked potentials. *Brain Stimul*. 2010 Apr;3(2):87-94
69. Kamke, M.; Hall, M.; Lye, H.; Sale, M.; Fenlon, L.; Carroll, T.; Riek, S.; Mattingley, J. Visual attentional load influences plasticity in the human motor cortex. *J Neurosci*. 2012 May 16;32(20):7001-8
70. Khedr, E. M.; Galal, O.; Said, A.; Abd-elsameea, M.; Rothwell, J. C. Lack of post-exercise depression of corticospinal excitability in patients with Parkinson's disease. *Eur J Neurol* 2007; 14(7): 793–6
71. Kim, J. H.; Lee, H. W.; Cohen, L. G.; Park, K. D.; Choi, K. G.; Motor cortical excitability in patients with poststroke epilepsy. *Epilepsia* 2008; 49(1): 117–24
72. Kimberley, T.; Borich, M.; Prochaska, K.; Mundfrom, S.; Perkins, A.; Poepping, J. Establishing the definition and inter-rater reliability of cortical silent period calculation in subjects with focal hand dystonia and healthy controls. *Neurosci Lett*. 2009 Oct 23; 464(2):84-7
73. Kimiskidis, V. K.; Papagiannopoulos, S.; Sotirakoglou, K.; Kazis, D. A.; Dimopoulos, G.; Kazis, A. & Mills, K. R. The repeatability of corticomotor threshold measurements. *Neurophysiol Clin* 2004; 34: 259-266
74. King, N. K.; Kuppuswamy, A.; Strutton, P. H.; Davey, N. J. Estimation of cortical silent period following transcranial magnetic stimulation using a computerised cumulative sum method. *J Neurosci Methods*. 2006 Jan 15; 150(1): 96-104

75. Kojima, S.; Onishi, H.; Sugawara, K.; Kirimoto, H.; Suzuki, M.; Tamaki, H. Modulation of the cortical silent period elicited by single- and paired-pulse transcranial magnetic stimulation. *BMC Neurosci.* 2013 Apr 2; 14:43
76. Kreuzer, P.; Langguth, B.; Popp, R.; Raster, R.; Busch, V.; Frank, E.; Hajak, G.; Landgrebe, M. Reduced intra-cortical inhibition after sleep deprivation: a transcranial magnetic stimulation study. *Neurosci Lett.* 2011 Apr 15; 493(3): 63-6
77. Kujirai, T.; Caramia, M. D.; Rothwell, J. C.; Day, B. L.; Thompson, P. D.; Ferbert, A.; Wroe, S.; Asselman, P. & Marsden, C. D. Corticocortical inhibition in human motor cortex. *J Physiol* 1993; 471: 501-519
78. Kukowski, B. & Haug, B. Quantitative evaluation of the silent period, evoked by transcranial magnetic stimulation during sustained muscle contraction, in normal man and in patients with stroke. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1992; 32: 373-378
79. Lang, N.; Rothkegel, H.; Reiber, H.; Hasan, A.; Sueske, E.; Tergau, F.; Ehrenreich, H.; Wuttke, W. & Paulus, W. Circadian modulation of GABA-mediated cortical inhibition. *Cereb Cortex* 2011; 21: 2299-2306
80. Lerner, A.; Wassermann, E., Tamir, D. Seizures from transcranial magnetic stimulation 2012-2016: Results of a survey of active laboratories and clinics. *Clin Neurophysiol.* 2019 Aug; 130(8):1409-1416
81. Levinson, A. J.; Young, L. T.; Fitzgerald, P. B.; Daskalakis, Z. J. Cortical inhibitory dysfunction in bipolar disorder: a study using transcranial magnetic stimulation. *J Clin Psychopharmacol* 2007; 27(5): 493–7
82. Liepert, J.; Storch, P.; Fritsch, A.; Weiller, C. Motor cortex disinhibition in acute stroke. *Clin Neurophysiol* 2000; 111(4): 671–6

83. Lindberg, P. G.; Térémetz, M.; Charron, S.; Kebir, O.; Saby, A.; Bendjemaa, N.; Lion, S.; Crépon, B.; Gaillard, R.; Oppenheim, C.; Krebs, M. O.; Amado, I. Altered cortical processing of motor inhibition in schizophrenia. *Cortex*. 2016 Dec; 85: 1-12
84. Liu, H.; Au-Yeung, S. S. Reliability of transcranial magnetic stimulation induced corticomotor excitability measurements for a hand muscle in healthy and chronic stroke subjects. *J Neurol Sci*. 2014 Jun 15; 341(1-2): 105-9
85. Livingston, S. C.; Ingersoll, C. D. Intra-rater reliability of a transcranial magnetic stimulation technique to obtain motor evoked potentials. *Int J Neurosci*. 2008 Feb;118(2): 239-56
86. Livingston, S. C.; Goodkin, H. P. & Ingersoll, C. D. The influence of gender, hand dominance, and upper extremity length on motor evoked potentials. *J Clin Monit Comput* 2010; 24: 427-436
87. Maeda, F.; Gangitano, M.; Thall, M. & Pascual-Leone, A. Inter- and intra-individual variability of paired-pulse curves with transcranial magnetic stimulation (TMS). *Clin Neurophysiol* 2002; 113: 376-382
88. Malcolm, M.; Triggs, W.; Light, K.; Shechtman, O.; Khandekar, G.; Gonzalez Rothi, L. Reliability of motor cortex transcranial magnetic stimulation in four muscle representations. *Clin Neurophysiol*. 2006 May; 117(5): 1037-46
89. Manganotti, P.; Palermo, A.; Patuzzo, S.; Zanette, G. & Fiaschi, A. Decrease in motor cortical excitability in human subjects after sleep deprivation. *Neurosci Lett* 2001; 304: 153-156
90. Mills, K. R.; Murray, N. M. & Hess, C. W. Magnetic and electrical transcranial brain stimulation: physiological mechanisms and clinical applications. *Neurosurgery* 1987; 20: 164-168

91. Mills, K. R.; Boniface, S. J. & Schubert, M. Magnetic brain stimulation with a double coil: the importance of coil orientation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992; 85: 17-21
92. Mills, K. R. & Nithi, K. A. Corticomotor threshold to magnetic stimulation: normal values and repeatability. *Muscle Nerve* 1997; 20: 570-576
93. Miron, J. P.; Feffer, K.; Cash, R. F. H.; Derakhshan, D.; Kim, J. M. S.; Fettes, P.; Giacobbe, P.; Blumberger, D. M.; Daskalakis, Z. J.; Downar, J. Safety, tolerability and effectiveness of a novel 20 Hz rTMS protocol targeting dorsomedial prefrontal cortex in major depression: An open-label case series. *Brain Stimul.* 2019 Sep – Oct; 12(5):1319-1321
94. Mortifee, P.; Stewart, H.; Schulzer, M. & Eisen, A. Reliability of transcranial magnetic stimulation for mapping the human motor cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994; 93: 131-137
95. Mosimann, U. P.; Marre, S. C.; Werlen, S.; Schmitt, W.; Hess, C. W.; Fisch, H. U. & Schlaepfer, T. E. Antidepressant effects of repetitive transcranial magnetic stimulation in the elderly: correlation between effect size and coil-cortex distance. *Arch Gen Psychiatry* 2002; 59: 560-561
96. Ni, Z.; Chen, R. Short-interval intracortical inhibition: a complex measure. *Clin Neurophysiol.* 2008 Oct; 119(10): 2175-6
97. Nilsson, J.; Panizza, M. & Arieti, P. Computer-aided determination of the silent period. *J Clin Neurophysiol* 1997; 14: 136-143
98. Ngomo, S.; Leonard, G.; Moffet, H.; Mercier, C. Comparison of transcranial magnetic stimulation measures obtained at rest and under active conditions and their reliability. *J Neurosci Methods* 2012; 205: 65-71

99. Orth, M.; Snijders, A. H. & Rothwell, J. C. The variability of intracortical inhibition and facilitation. *Clin Neurophysiol* 2003; 114: 2362-2369
100. Orth, M. & Rothwell, J. C. The cortical silent period: intrinsic variability and relation to the waveform of the transcranial magnetic stimulation pulse. *Clin Neurophysiol* 2004; 115: 1076-1082
101. Patton, H. D. & Amassian, V. E. Single and multiple-unit analysis of cortical stage of pyramidal tract activation. *J Neurophysiol* 1954; 17: 345-363
102. Paus, T.; Jech, R.; Thompson, C. J.; Comeau, R.; Peters, T. & Evans, A. C. Transcranial magnetic stimulation during positron emission tomography: a new method for studying connectivity of the human cerebral cortex. *J Neurosci* 1997; 17: 3178-3184
103. Pavlicek, W.; Geisinger, M.; Castle, L.; Borkowski, G. P.; Meaney, T. F.; Bream, B. L. & Gallagher, J. H. The effects of nuclear magnetic resonance on patients with cardiac pacemakers. *Radiology* 1983; 147: 149-153
104. Peri, E.; Ambrosini, E.; Colombo, V.; van de Ruit, M.; Grey, M.; Monticone, M.; Ferriero, G.; Pedrocchi, A.; Ferrigno, G.; Ferrante, S. Intra and inter-session reliability of rapid Transcranial Magnetic Stimulation stimulus-response curves of tibialis anterior muscle in healthy older adults. *PLoS One* 2017 Sep 14; 12(9)
105. Petitjean, M.; Ko, J. Y. An age-related change in the ipsilateral silent period of a small hand muscle. *Clin Neurophysiol.* 2013 Feb; 124(2): 346-53
106. Plummer, N. W. & Meisler, M. H. Evolution and diversity of mammalian sodium channel genes. *Genomics* 1999; 57: 323-331

107. Pridmore, S.; Fernandes Filho, J. A.; Nahas, Z.; Liberatos, C. & George, M. S. Motor threshold in transcranial magnetic stimulation: a comparison of a neurophysiological method and a visualization of movement method. *J ECT* 1998; 14: 25-27
108. Rábago, C. A.; Lancaster, J. L.; Narayana, S.; Zhang, W.; Fox, P. T. Automated-parameterization of the motor evoked potential and cortical silent period induced by transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol.* 2009 Aug; 120(8): 1577-87
109. Reis, J.; Wentrup, A.; Hamer, H. M.; Mueller, H.-H.; Knake, S.; Tergau, F.; Oertel, W. H. & Rosenow, F. Levetiracetam influences human motor cortex excitability mainly by modulation of ion channel function--a TMS study. *Epilepsy Res* 2004; 62: 41-51
110. Rosenkranz, K. & Rothwell, J. C. Differences between the effects of three plasticity inducing protocols on the organization of the human motor cortex. *Eur J Neurosci* 2006; 23: 822-829
111. Rossi, S.; Pasqualetti, P.; Tecchio, F.; Pauri, F. & Rossini, P. M. Corticospinal excitability modulation during mental simulation of wrist movements in human subjects. *Neurosci Lett* 1998; 243: 147-151
112. Rossi, S.; Hallett, M.; Rossini, P. M.; Pascual-Leone, A. & Safety of TMS Consensus Group. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin Neurophysiol* 2009; 120: 2008-2039
113. Rossini, P. M.; Barker, A. T.; Berardelli, A.; Caramia, M. D.; Caruso, G.; Cracco, R. Q.; Dimitrijevic, M. R.; Hallett, M.; Katayama, Y. & Lücking, C. H. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994; 91: 79-92

114. Rossini, P. M.; Berardelli, A.; Deuschl, G.; Hallett, M.; Maertens de Noordhout, A. M.; Paulus, W. & Pauri, F. Applications of magnetic cortical stimulation. The International Federation of Clinical Neurophysiology. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl* 1999; 52: 171-185
115. Roth, B. J.; Saypol, J. M.; Hallett, M. & Cohen, L. G. A theoretical calculation of the electric field induced in the cortex during magnetic stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1991; 81: 47-56
116. Rowan, A. J.; Veldhuisen, R. J. & Nagelkerke, N. J. Comparative evaluation of sleep deprivation and sedated sleep EEGs as diagnostic aids in epilepsy. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1982; 54: 357-364
117. Rozand, V.; Senefeld, J. W.; Sundberg, C. W.; Smith, A. E.; Hunter, S. K. Differential effects of aging and physical activity on corticospinal excitability of upper and lower limb muscles. *J Neurophysiol*. 2019 Jul 1; 122(1): 241-250
118. Rudiak, D. & Marg, E. Finding the depth of magnetic brain stimulation: a re-evaluation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994; 93: 358-371
119. Rösler, K. M.; Hess, C. W.; Heckmann, R. & Ludin, H. P. Significance of shape and size of the stimulating coil in magnetic stimulation of the human motor cortex. *Neurosci Lett* 1989; 100: 347-352
120. Sale, M. V.; Ridding, M. C. & Nordstrom, M. A. Factors influencing the magnitude and reproducibility of corticomotor excitability changes induced by paired associative stimulation. *Exp Brain Res* 2007; 181: 615-626
121. Sankarasubramanian, V.; Roelle, S. M.; Bonnett, C. E.; Janini, D.; Varnerin, N. M.; Cunningham, D. A.; Sharma, J. S.; Potter-Baker, K. A.; Wang, X.; Yue, G. H.; Plow, E. B. Reproducibility of transcranial magnetic stimulation metrics in the study of proximal upper limb muscles. *J Electromyogr Kinesiol*. 2015 Oct; 25(5): 754-64

122. Schambra, H.; Ogden, R.; Martínez-Hernández, I.; Lin, X.; Chang, Y.; Rahman, A.; Edwards, D.; Krakauer, J. The reliability of repeated TMS measures in older adults and in patients with subacute and chronic stroke. *Front Cell Neurosci.* 2015 Sep 1; 9: 335
123. Schlachter, K.; Gruber-Sedlmayr, U.; Stogmann, E. A splice site variant in the sodium channel gene SCN1A confers risk of febrile seizures. *Neurology* 2009; 72: 974–978
124. Siniatchkin, M.; Schlicke, C.; Stephani, U. Transcranial magnetic stimulation reveals high test-retest reliability for phosphenes but not for suppression of visual perception. *Clin Neurophysiol.* 2011; 122: 2475-2481
125. Smith, M. J.; Keel, J. C.; Greenberg, B. D.; Adams, L. F.; Schmidt, P. J.; Rubinow, D. A. & Wassermann, E. M. Menstrual cycle effects on cortical excitability. *Neurology* 1999; 53: 2069-2072
126. Smith, M. J.; Adams, L. F.; Schmidt, P. J.; Rubinow, D. R. & Wassermann, E. M. Effects of ovarian hormones on human cortical excitability. *Ann Neurol* 2002; 51: 599-603
127. Stefan, K.; Kunesch, E.; Cohen, L. G.; Benecke, R. & Classen, J. Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation. *Brain* 2000; 123: 572-584
128. Stefan, K.; Wycislo, M. & Classen, J. Modulation of associative human motor cortical plasticity by attention. *J Neurophysiol* 2004; 92: 66-72
129. Stokes, M. G.; Chambers, C. D.; Gould, I. C.; English, T.; McNaught, E.; McDonald, O. & Mattingley, J. B. Distance-adjusted motor threshold for transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol* 2007; 118: 1617-1625

130. Strutton, P. H.; Catley, M. & Davey, N. J. Stability of corticospinal excitability and grip force in intrinsic hand muscles in man over a 24-h period. *Physiol Behav* 2003; 79: 679-682
131. Sugawara, T.; Mazaki-Miyazaki, E.; Ito, M.; Nagafuji, H.; Fukuma, G.; Mitsudome, A.; Wada, K.; Kaneko, S.; Hirose, S. & Yamakawa, K. Nav1.1 mutations cause febrile seizures associated with afebrile partial seizures. *Neurology* 2001; 57: 703-705
132. Säisänen, L.; Pirinen, E.; Teitti, S.; Könönen, M.; Julkunen, P.; Määttä, S. & Karhu, J. Factors influencing cortical silent period: optimized stimulus location, intensity and muscle contraction. *J Neurosci Methods* 2008; 169: 231-238
133. Takeuchi, N.; Tada, T.; Chuma, T.; Matsuo, Y.; Ikoma, K. Disinhibition of the premotor cortex contributes to a maladaptive change in the affected hand after stroke. *Stroke* 2007; 38(5): 1551–6
134. Tallent, J.; Goodall, S.; Hortobágyi, T.; St Clair Gibson, A.; French, D.; Howatson, G. Repeatability of corticospinal and spinal measures during lengthening and shortening contractions in the human tibialis anterior muscle. *PLoS One*. 2012; 7(4): e35930
135. Tassinari, C. A.; Michelucci, R.; Forti, A.; Plasmati, R.; Troni, W.; Salvi, F.; Blanco, M. & Rubboli, G. Transcranial magnetic stimulation in epileptic patients: usefulness and safety. *Neurology* 1990; 40: 1132-1133
136. Tataroglu, C.; Genc, A.; Idiman, E.; Cakmur, R.; Idiman, F. Cortical silent period and motor evoked potentials in patients with multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg* 2003; 105(2): 105–10

137. Tate, S. K.; Depondt, C.; Sisodiya, S. M.; Cavalleri, G. L.; Schorge, S.; Soranzo, N.; Thom, M.; Sen, A.; Shorvon, S. D.; Sander, J. W.; Wood, N. W. & Goldstein, D. B. Genetic predictors of the maximum doses patients receive during clinical use of the anti-epileptic drugs carbamazepine and phenytoin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 5507-5512
138. Tate, S. K.; Singh, R.; Hung, C.-C.; Tai, J. J.; Depondt, C.; Cavalleri, G. L.; Sisodiya, S. M.; Goldstein, D. B. & Liou, H.-H. A common polymorphism in the SCN1A gene associates with phenytoin serum levels at maintenance dose. *Pharmacogenet Genomics* 2006; 16: 721-726
139. Ter Braack, E. M.; de Goede, A. A.; van Putten, M. J. A. M. Resting Motor Threshold, MEP and TEP Variability During Daytime. *Brain Topogr.* 2019 Jan; 32(1): 17-27
140. Tergau, F.; Wanschura, V.; Canelo, M.; Wischer, S.; Wassermann, E. M.; Ziemann, U. & Paulus, W. Complete suppression of voluntary motor drive during the silent period after transcranial magnetic stimulation. *Exp Brain Res* 1999; 124: 447-454
141. Thielscher, A. & Kammer, T. Electric field properties of two commercial figure-8 coils in TMS: calculation of focality and efficiency. *Clin Neurophysiol* 2004; 115: 1697-1708
142. Tofts, P. S. The distribution of induced currents in magnetic stimulation of the nervous system. *Phys Med Biol* 1990; 35: 1119-1128
143. Traversa, R.; Cicinelli, P.; Pasqualetti, P.; Filippi, M. & Rossini, P. M. Follow-up of interhemispheric differences of motor evoked potentials from the 'affected' and 'unaffected' hemispheres in human stroke. *Brain Res* 1998; 803: 1-8

144. van Kuijk, A. A.; Anker, L. C.; Pasman, J. W.; Hendriks, J. C.; van Elswijk, G.; Geurts, A. C. Stimulus-response characteristics of motor evoked potentials and silent periods in proximal and distal upper-extremity muscles. *J Electromyogr Kinesiol.* 2009 Aug;19(4):574-83
145. Varnava, A.; Stokes, M. G. & Chambers, C. D. Reliability of the 'observation of movement' method for determining motor threshold using transcranial magnetic stimulation. *J Neurosci Methods* 2011; 201: 327-332
146. Wahl, M.; Ziemann, U. Kortikale Doppelpulsprotokolle. In: Siebner, H.; Ziemann, U.; (Hrsg.). *Das TMS-Buch - Handbuch der transkraniellen Magnetstimulation.* 1. Aufl. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2007. 167-176.
147. Wassermann, E. M.; McShane, L. M.; Hallett, M. & Cohen, L. G. Noninvasive mapping of muscle representations in human motor cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992; 85: 1-8
148. Wassermann, E. M. Variation in the response to transcranial magnetic brain stimulation in the general population. *Clin Neurophysiol* 2002; 113: 1165-1171
149. Wei, D.; Greenwood, F.; Murgatroyd, F.; Goadsby, P. Case Report of the Safety Assessment of Transcranial Magnetic Stimulation Use in a Patient With Cardiac Pacemaker: To Pulse or Not to Pulse? *Headache* 2018 Feb; 58(2):295-297
150. Werhahn, K. J.; Kunesch, E.; Noachtar, S.; Benecke, R. & Classen, J. Differential effects on motorcortical inhibition induced by blockade of GABA uptake in humans. *J Physiol* 1999; 517: 591-597

151. Wolf, S. L.; Butler, A. J.; Campana, G. I.; Parris, T. A.; Struys, D. M.; Weinstein, S. R. & Weiss, P. Intra-subject reliability of parameters contributing to maps generated by transcranial magnetic stimulation in able-bodied adults. Clin Neurophysiol 2004; 115: 1740-1747
152. Ziemann, U.; Lönnecker, S.; Steinhoff, B. J. & Paulus, W. Effects of antiepileptic drugs on motor cortex excitability in humans: a transcranial magnetic stimulation study. Ann Neurol 1996; 40: 367-378
153. Ziemann, U.; Lönnecker, S.; Steinhoff, B. J. & Paulus, W. The effect of lorazepam on the motor cortical excitability in man. Exp Brain Res 1996a; 109: 127-135
154. Ziemann, U.; Tergau, F.; Wassermann, E. M.; Wischer, S.; Hildebrandt, J. & Paulus, W. Demonstration of facilitatory I wave interaction in the human motor cortex by paired transcranial magnetic stimulation. J Physiol 1998; 511: 181-190
155. Ziemann, U. Intracortical inhibition and facilitation in the conventional paired TMS paradigm. Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl 1999; 51: 127-136
156. Ziemann, U. Pharmacology of TMS. Suppl Clin Neurophysiol 2003; 56: 226-231
157. Ziemann, U. TMS and drugs. Clin Neurophysiol. 2004 Aug; 115(8): 1717-29
158. Ziemann, U.; Reis, J.; Schwenkreis, P.; Rosanova, M.; Strafella, A.; Badawy, R.; Müller-Dahlhaus, F. TMS and drugs revisited 2014. Clin Neurophysiol. 2015 Oct; 126(10): 1847-68

TEIL VII - ANHANG

1 Probandeninformation



Epicure

V02F

Klinik für Neurologie, Prof. Dr. W. H. Oertel,
Rudolf-Bultmann-Str. 8, 35033 Marburg

Hausanschrift: Rudolf-Bultmann-Str. 8
35039 Marburg
(Ortenberg)

Postanschrift: 35033 Marburg
Telefon: 06421-58-65200
Durchwahl 06421-58-65200
Telefax: 06421-58-65208
e-mail: hatteimer@med.uni-
marburg.de
Internet: www.med.uni-
marburg.de

**Untersuchung des Einflusses von Carbamazepin auf die mittels transkranieller
Magnetstimulation gemessene kortikale Exzitabilität des menschlichen Motorkortex in
Abhängigkeit vom Polymorphismus für SCN1A.**

Epicure

EudraCT-Nr: 2008-003392-40

**Probandeninformation und Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der klinischen
Studie**

Identifikations-Nummer: _____

Sehr geehrte Damen und Herren,

mit diesem Schreiben möchten wir Sie über die Möglichkeit zur Teilnahme an einer klinischen Studie informieren und gleichzeitig bitten, daran teilzunehmen. Bevor Sie sich entscheiden, ist es wichtig, dass Sie verstehen, warum diese Studie durchgeführt wird, welcher Nutzen zu erwarten ist und welche möglichen Risiken mit der Teilnahme an dieser Studie verbunden sind. Bitte nehmen Sie sich Zeit, die folgenden Informationen sorgfältig durchzulesen und entscheiden Sie ganz in Ruhe, ob Sie an der Studie teilnehmen wollen oder nicht.

Die Teilnahme an einer klinischen Prüfung ist freiwillig und kann jederzeit ohne Angabe von Gründen durch Sie beendet werden, ohne dass Ihnen hierdurch Nachteile entstehen.



1. Wesen der klinischen Studie

Klinische Studien dienen dazu, den Erkenntnisstand über Sicherheit, Wirksamkeit und Verträglichkeit von Arzneimitteln zu erweitern. Die Durchführung von klinischen Studien ist zum Schutze des Probanden durch das Arzneimittelgesetz strengen Regeln unterworfen.

Unverzichtbare Voraussetzung für die Durchführung einer klinischen Prüfung ist jedoch, dass Sie Ihr Einverständnis zur Teilnahme an dieser klinischen Prüfung schriftlich erklären. Bitte lesen Sie den folgenden Text als Ergänzung zum Informationsgespräch mit Ihrem Prüfarzt sorgfältig durch und zögern Sie nicht Fragen zu stellen.

2. Ziel der Studie

In dieser Studie soll der Einfluss des Medikaments Carbamazepin, das gegen Epilepsie eingesetzt wird, auf die Erregbarkeit des Gehirns untersucht werden. In früheren Untersuchungen hat sich gezeigt, dass Carbamazepin im Gehirn an einen Natriumkanal bindet, für den es verschiedene genetische Varianten (Genotypen) gibt, die als AA, AG oder GG bezeichnet werden. Weiterhin gibt es Hinweise, dass bei Probanden des Genotyps GG weniger hohe Carbamazepindosen notwendig sind als bei Probanden des Genotyps AA. Probanden des Genotyps AG benötigen mittlere Dosen. In der Bevölkerung haben etwa 25% der Menschen den Genotyp AA, 53% den Genotyp AG und 22% den Genotyp GG.

In der folgenden Studie soll untersucht werden, ob sich die Wirkung von Carbamazepin an den Natriumkanälen bei Menschen mit unterschiedlichen Genotypen unterscheidet. Als Messtechnik verwenden wir dazu die transkranielle Magnetstimulation (TMS).

3. Behandlungsablauf

Nach einem ausführlichen Gespräch mit Ihrem Arzt und Einschluss in die Studie wird Ihnen Blut abgenommen. Dieses wird zu Dr. med. habil. Thomas Sander am Center of Genomics in Köln geschickt, wo eine genetische Untersuchung des Gens für den Natriumkanal (SCN1A) durchgeführt wird. Daneben werden noch zwei Varianten im GABA-Rezeptor (GABRD und GABRB3) und zwei Varianten in einem Kalzium-Kanal (CACNA1H) bestimmt, welche möglicherweise einen Einfluss auf die Ergebnisse der transkraniellen Magnetstimulation haben könnten. Sollten Sie den Genotyp AA oder GG aufweisen, wird die Erregbarkeit des Gehirns mit TMS untersucht. Ihr Genotyp wird Ihnen daher mitgeteilt werden. Falls Sie den Genotyp AG aufweisen würden wir gegebenenfalls zu einem späteren Zeitpunkt mit Ihnen Kontakt aufnehmen für Untersuchungen.



Transkranielle Magnetstimulation (TMS) ist ein nicht-invasives, in der Regel schmerzloses Verfahren zur Untersuchung der zentralmotorischen Nervenleitungsbahnen. Für die transkranielle Magnetstimulation wird Ihnen eine ca. handtellergroße Magnetspule auf den Kopf aufgelegt. Die zum Einsatz kommenden Magnetstimulatoren produzieren einen sehr kurz andauernden Stromfluss in der angeschlossenen Spule. Dadurch baut sich vorübergehend ein Magnetfeld auf, das die intakte Schädeldecke durchdringt und einen sehr kleinen Stromfluss im darunter liegenden Hirngewebe verursacht. Dies bewirkt eine Erregung von Nervenzellen oder deren Fortsätzen. Sie werden dabei keine Schmerzen verspüren. Die Erregung der Nervenzellen führt dazu, dass sich Ihr Kleinfingermuskel kontrahiert (anspannt). Es kann sein, dass Sie deshalb ein leichtes Zucken Ihres Fingers verspüren, was aber ebenfalls in der Regel nicht schmerzhaft ist. Diese Anspannung wird über zwei kleine, ca. pfenniggroße Elektroden gemessen, die mit einem Pflaster auf Ihr Kleinfingergelenk und den Muskelbauch am rechten Kleinfingerballen geklebt werden. Während der TMS kann es zu unangenehmen, in der Regel nicht als schmerzhaft empfundenen Kontraktionen von Kopf-, Gesichts- oder Nackenmuskeln kommen. Weiterhin kann der TMS-Reiz selber als kurzes Stechen auf der Kopfhaut wahrgenommen werden.

Insgesamt werden zwei Sitzungen mit einem zeitlichen Abstand von mindestens 14 Tagen stattfinden. Bei jeder der zwei Sitzungen werden Sie zunächst wie oben beschrieben mit TMS untersucht. Jede TMS Untersuchung dauert ungefähr 45 Minuten. Danach erhalten Sie während einer der beiden Sitzungen 400mg Carbamazepin (Tegretal®) und während der anderen Sitzung ein Placebo (kein aktiver Wirkstoff). Die Reihenfolge der Einnahme wird weder Ihnen noch dem Untersucher bekannt sein. Das bedeutet für Sie, dass Sie während der Medikamenteneinnahme eine Schlafmaske tragen werden.

Ca. 5 Stunden nach Tabletteneinnahme werden wir mittels TMS erneut Ihre Nervenzellen reizen und währenddessen die Muskelaktivität messen.

Jeweils vor und nach den TMS- Untersuchungen werden wir Ihnen einige Fragebögen zum aktuellen Befinden und körperlichen Symptomen geben. Das Ausfüllen dauert pro Visite ca. 30 Minuten und wird zum Großteil in der Wartezeit zwischen den TMS- Messungen erfolgen. Vor der ersten Untersuchung bei der ersten Visite werden wir ein EKG durchführen, um eine veränderte Herzaktivität aus zu schließen. Weibliche Teilnehmer müssen bei jeder Visite einen Schwangerschaftstest durchführen um eine Schwangerschaft aus zu schließen.



4. Voraussetzung für die Teilnahme

Bevor Sie in die Studie eingeschlossen werden können, müssen Sie Ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme geben. Damit bestätigen Sie, dass Sie ausreichend über die Studie informiert worden sind, den Inhalt und Ablauf der Studie verstanden haben und die Bedingungen unter denen die Studie durchgeführt wird, anerkennen. Sie dürfen nur teilnehmen, wenn sie keine Veränderungen der Herzaktivität besitzen (Prüfung durch einmaliges EKG) .

4.1 Ausschluss von Schwangerschaften

Schwangere Frauen oder Frauen, die eine Schwangerschaft planen, dürfen an dieser Studie nicht teilnehmen. Frauen im gebärfähigen Alter müssen sich vor jeder Tabletteneinnahme (Visite 1 und 2) einem Schwangerschaftstest unterziehen, damit eine Schwangerschaft sicher auszuschließen ist. Außerdem müssen Sie vor und während der Teilnahme an der Prüfung eine zuverlässige Methode der Schwangerschaftsverhütung anwenden. Über entsprechende Methoden informiert Sie gerne Ihr Prüfarzt. Wesentlich ist dabei, dass sowohl Männer als auch Frauen eine solche zuverlässige Verhütungsmethode (z. B. hormonelle bzw. mechanische Schwangerschaftsverhütung oder Kombination von hormoneller und mechanischer Schwangerschaftsverhütung: Antibabypille und Spirale mind. einen Monat vor Studieneinschluß, Diaphragma, Kondome,...) bis einschließlich 3 Monate nach der letzten Einnahme der Studienmedikation anwenden. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die empfängnisverhütende Wirkung der Antibabypille verringert wird, so dass eine Kombination mit anderen Verhütungsmethoden angeraten ist. Sollte während der Studie dennoch eine Schwangerschaft eintreten, informieren Sie bitte umgehend Ihren Prüfarzt. Für Frauen wird in diesem Fall die Studie beendet.

5. Mögliche Risiken und Nebenwirkungen

Alle Medikamente können Nebenwirkungen verursachen. Im Folgenden sind die möglichen Nebenwirkungen der eingesetzten Medikamente und Behandlungsmethoden aufgelistet. Dies bedeutet nicht, dass alle oder einige dieser Nebenwirkungen auch bei Ihnen auftreten werden. Neben den hier aufgeführten bekannten Nebenwirkungen kann es jedoch auch zu nicht vorhersehbaren Nebenwirkungen kommen, deshalb wird bei jeder Sitzung etwa 5 Stunden nach der Tabletteneinnahme ein individuelles Nebenwirkungsprofil erstellt. Sollten



bei Ihnen Nebenwirkungen auftreten, wird Ihr behandelnder Arzt Ihnen sagen, welche Maßnahmen ergriffen werden müssen und wird gegebenenfalls die Studienbehandlung anpassen, ändern oder abbrechen.

Als mögliche Risiken bei der im Rahmen dieser Studie vorkommenden Blutabnahmen aus Ihrer Armvene sind Schmerz, Bluterguss, Benommenheit und in äußerst seltenen Fällen Infektionen zu nennen.

Mögliche Nebenwirkungen von Carbamazepin (Tegretal)

Carbamazepin ist im Allgemeinen bei **einmaliger** Gabe, wie in dieser Studie, sehr gut verträglich. Wie alle Antiepileptika wirkt es auf das Zentralnervensystem und kann daher Schläfrigkeit, Schwindel, Konzentrationsstörungen und ähnliche Symptome hervorrufen, die jedoch in 4-10 Stunden abklingen. Deshalb wird davon abgeraten, nach der Intervention Auto zu fahren und/oder komplexe Maschinen zu bedienen.

In klinischen Studien mit Carbamazepin-**Dauermedikation** bei Probanden mit Epilepsie wurden nachfolgenden Nebenwirkungen beobachtet.

Bei der Bewertung der Nebenwirkungen werden folgende Häufigkeitsangaben zugrunde gelegt: Sehr häufig: $\geq 10\%$ (1 oder mehr als 1 von 10 Behandelten) ; häufig: $\geq 1\%$ – $<10\%$ (1 oder mehr als 1 von 100 Behandelten aber weniger als 1 von 10 Behandelten); gelegentlich: $\geq 0,1\%$ – $<1\%$ (1 oder mehr als 1 von 1.000 Behandelten aber weniger als 1 von 100 Behandelten); selten: $\geq 0,01\%$ – $<0,1\%$ (1 oder mehr als 1 von 10.000 Behandelten aber weniger als 1 von 1.000 Behandelten); sehr selten: $\leq 0,01\%$ (weniger als 1 von 10.000 Behandelten).

Zentralnervensystem/Psychie

Sehr häufig können Somnolenz (Benommenheit, Bewusstseinstörung), Sedierung (Dämpfung von Funktionen des zentralen Nervensystems wie z.B. durch ein Beruhigungsmittel), Schläfrigkeit, Schwindel, Ataxie (Koordinationsstörungen, Gangunsicherheit), gelegentlich auch Kopfschmerzen, bei älteren Patienten Verwirrtheit und Unruhe (Agitation) auftreten. Im psychischen Bereich wurden sehr selten Stimmungsveränderungen wie depressive oder manische Verstimmungen, phobische Störungen (Angststörungen), aggressives Verhalten, Denkerschwermis, Antriebsverarmung sowie Halluzinationen (akustisch und visuell), Tinnitus (Ohrgeräusche) und Hyper- und Hypoakusis



(Geräuschüberempfindlichkeit und Schwerhörigkeit) sowie Änderung der Wahrnehmung von Tonhöhen beobachtet. Unter der Behandlung mit Tegretal 200 mg können latente (unterschwellige) Psychosen aktiviert werden. Gelegentlich treten unwillkürliche Bewegungen wie z. B. Asterixis (Zittern der Hände) oder Ticks, Störungen der Okulomotorik (Augenbewegungsstörungen) einhergehend mit Nystagmus (unwillkürliches Zittern der Augen) und/oder Doppelbildern sowie Akkommodationsstörungen (verminderte Fähigkeit des Auges, eine Scharfeinstellung auf unterschiedliche Entfernungen vorzunehmen) auf. Darüber hinaus können bei älteren und hirngeschädigten Patienten dyskinetische Störungen (unwillkürliche Bewegungen) wie orofaziale Dyskinesien (unwillkürliche Bewegungen des Mundes und Gesichtes, unwillkürliches Grimassieren), Choreoathetose (unwillkürliche Bewegungen im Mund-Gesichtsbereich wie Grimassieren, verschraubte Bewegungen) auftreten. Sehr selten wurden Sprechstörungen, Missempfindungen, Muskelschwäche, Polyneuropathie (Funktionsstörung der peripheren Nerven), periphere Neuritis (Entzündung peripherer Nerven) sowie Lähmungserscheinungen der Beine (Paresen) und Geschmacksstörungen berichtet. Es gibt Hinweise darauf, dass Carbamazepin zu einer Verschlechterung der Symptome einer Multiplen Sklerose führen kann. Es wurden Fälle von aseptischer Meningitis (Hirnhautentzündung) unter Carbamazepin-Therapie berichtet. Wie bei Einnahme anderer Medikamente gegen Anfallsleiden auch, kann es unter Carbamazepin zu einer Anfallshäufung kommen; insbesondere Absencen (spezielle von beiden Hirnhälften ausgehende Anfallsform) können verstärkt oder neu auftreten.

Augen

Sehr selten treten Konjunktividen (Bindehautentzündung) auf. Über Linsentrübung wurde berichtet. Bei zwei Patienten wurde in Zusammenhang mit einer Carbamazepin-Langzeittherapie über Retinotoxizität (Schädigung der Netzhaut) berichtet, die nach Absetzen des Carbamazepins rückläufig war.

Bewegungsapparat

Sehr selten wurde über Arthralgien und Myalgien (Gelenk- und Muskelschmerzen) sowie Muskelkrämpfe berichtet. Nach Absetzen von Carbamazepin verschwanden diese Erscheinungen.



Haut, Schleimhäute, Gefäßsystem

Häufig bis sehr häufig wird über allergische Hautreaktionen mit und ohne Fieber, wie z. B. Urtikaria (Nesselsucht) oder Pruritus (Juckreiz) sowie vereinzelt über exfoliative Dermatitis (schuppige Hautentzündung), Erythrodermie (Rötung der Haut), Lyell-Syndrom (blasige Ablösung der Haut, „Syndrom der verbrühten Haut“), Photosensibilität (Lichtempfindlichkeit der Haut), Erythema exsudativum multiforme (akute Entzündung der Haut mit Blasenbildung) et nodosum (Knotenrose), Steven- Johnson-Syndrom (Hauterkrankung mit schmerzhafter Blasenbildung, Fieber und Bindehautentzündung), Purpura (punktförmige Einblutungen in die Haut), Lupus erythematoses disseminatus berichtet. Alopezie (Haarausfall), vermehrtes Schwitzen, Veränderung der Hautpigmentierung, Akne, Hirsutismus (männlicher Behaarungstyp bei Frauen), Vaskulitis (Gefäßentzündung) traten vereinzelt bis gelegentlich auf.

Blut- und Lymphsystem

Häufig bis sehr häufig treten Blutbildveränderungen in Form von Leukozytose (erhöhte Zahl weisser Blutkörperchen), Eosinophilie (erhöhte Zahl einer Untergruppe der weissen Blutkörperchen) oder Leukopenie (verminderte Anzahl weißer Blutkörperchen), Thrombozytopenie (verminderte Anzahl der Blutplättchen) auf. Nach Literaturangaben tritt davon am häufigsten eine gutartige Leukopenie, in etwa 10 % der Fälle vorübergehend, in 2 % persistierend, auf. Eine gutartige Leukopenie tritt vor allem innerhalb der ersten vier Therapiemonate auf. Sehr selten wurde über zum Teil lebensbedrohende Blutzellschäden wie Agranulozytose (ausgeprägte Verminderung einer Untergruppe der weissen Blutkörperchen), aplastische Anämie (Blutarmut durch verminderte Bildung im Knochenmark), neben anderen Anämieformen (hämolytisch, megaloblastisch), Retikulozytose (vermehrtes Auftreten von Vorstufen der roten Blutkörperchen) und über Lymphadenopathie (Lymphknotenschwellung), Milzvergrößerung berichtet.

Gastrointestinaltrakt

Häufig treten Appetitlosigkeit, Mundtrockenheit, Nausea (Übelkeit) und Vomitus (Erbrechen), selten Diarrhö (Durchfall) oder Obstipation (Verstopfung) auf. Einzelfälle von Bauchschmerz sowie Schleimhautentzündungen im Mund Rachen-Bereich (Stomatitis, Gingivitis, Glossitis) sind berichtet worden. In der Literatur finden sich Hinweise, dass Carbamazepin möglicherweise eine Pankreatitis (Entzündung der Bauchspeicheldrüse) verursachen kann.



Besonders in hoher Dosierung kann Blutdruckabfall auftreten. Darüber hinaus wurde über Thrombophlebitis (Thrombose und Entzündung meist oberflächlicher Venen) und Thromboembolie berichtet.

Überempfindlichkeitsreaktionen

Gelegentlich sind verzögerte, mehrere Organsysteme betreffende Überempfindlichkeitsreaktionen mit Fieber, Hautausschlag, Vaskulitis (Gefäßentzündung), Lymphknotenschwellung, Gelenkschmerz, Leukopenie (Verminderung der weissen Blutkörperchen), Eosinophilie (Zunahme einer Untergruppe der weissen Blutkörperchen), Vergrößerung von Leber und Milz oder veränderte Leberfunktionswerte. Diese Erscheinungen können in verschiedenen Kombinationen auftreten und auch andere Organe wie Lunge, Niere, Bauchspeicheldrüse und Herzmuskel und Dickdarm betreffen. Sehr selten wurden akute allergische Allgemeinreaktionen und aseptische Hirnhautentzündung mit Myoklonus (Muskelzucken) und Eosinophilie (Zunahme einer Untergruppe der weissen Blutkörperchen), anaphylaktische Reaktionen (schwere allergische Überempfindlichkeitsreaktion) und Angioödem (deutliche Hautschwellung durch Wasseransammlung) beobachtet.

Mögliche Nebenwirkungen der transkraniellen Magnetstimulation (TMS)

Nebenwirkungen und potentielle Risiken der transkraniellen Magnetstimulation (TMS) bei gesunden Probanden:

Während der TMS kann es zu unangenehmen, in der Regel nicht als schmerzhaft empfundenen Kontraktionen von Kopf-, Gesichts- oder Nackenmuskeln kommen. Daneben kommt es regelhaft zu nicht schmerzhaften Kontraktionen der untersuchten Handmuskeln, selten auch der Bein- und Rumpfmuskulatur. Die TMS stellt heute eine unkomplizierte Routinemethode in der klinischen Diagnostik dar. Gelegentlich ist es während TMS-Untersuchungen bei Epilepsiepatienten zu epileptischen Anfällen gekommen. Unter den in dieser Studie verwendeten Doppelstimulationsparadigmen (Gabe von zwei Magnetimpulsen) wurden bei tausenden von Anwendungen bisher jedoch keine Anfälle bei gesunden Personen beobachtet.



6. Möglicher Nutzen Ihrer Studienteilnahme

Es gibt keinen persönlichen Nutzen durch die Studienteilnahme.

7. Aufwandsentschädigung

Für eine komplette Teilnahme an der Studie (Screening und 2 Visiten) erhalten Sie als Aufwandsentschädigung einen Gesamtbetrag von 100 Euro. Eine reine Teilnahme am Screening (Blutentnahme Bestimmung des Genotyps) oder ein Beenden an anderer Stelle wird mit 10 Euro vergütet.

8. Wann wird die klinische Studie beendet?

Sie können jederzeit, auch ohne Angabe von Gründen, Ihre Teilnahme widerrufen und aus der klinischen Prüfung ausscheiden, ohne dass Ihnen dadurch irgendwelche Nachteile entstehen.

Ihr Prüfarzt wird sie über alle neuen Erkenntnisse, die in Bezug auf diese klinische Prüfung bekannt werden, und für Sie wesentlich sein können, umgehend informieren. Auf dieser Basis können Sie dann Ihre Entscheidung zur weiteren Teilnahme an dieser klinischen Prüfung neu überdenken. Wenn Sie beschließen, weiter an der Studie teilzunehmen, werden Sie gebeten, eine neue Einverständniserklärung zu unterzeichnen.

Der Studienarzt oder Auftraggeber kann ebenfalls Ihre Teilnahme an der Studie beenden, wenn die gesamte Studie vorzeitig beendet wird, oder wenn der Studienarzt entscheidet, dass die Fortsetzung der Klinischen Studie nicht im Sinne Ihrer Gesundheit ist.

9. Versicherung

Mit Ihrem Einverständnis wird der Prüfarzt auch Ihren Hausarzt über Ihre Teilnahme an dieser Studie informieren.

Wie für alle klinischen Prüfungen hat der Auftraggeber (Universität Marburg) auch für diese Studie eine Probandenversicherung mit der Policennummer: 70-5619140-8 abgeschlossen. Träger der Versicherung ist der Gerling Vertrieb Deutschland GmbH: s. folgende Seite



Gerling Industrie Versicherung AG
Vertragsservice Haftpflicht
Am Schönenkamp 45
D-40599 Düsseldorf
Tel.: 0211-7482 5404
Fax: 0211-7482 565

Wir möchten Sie darauf hinweisen, dass die Versicherung keine Wegeunfallversicherung einschließt.

Zur Wahrung des Versicherungsschutzes müssen Sie folgende Obliegenheiten beachten:

Während der Dauer der klinischen Prüfung dürfen Sie sich einer anderen medizinischen Behandlung nur nach Rücksprache mit Ihrem Prüfarzt unterziehen. Dies gilt nicht im medizinischen Notfall, der klinische Prüfer ist aber von einer Notfallbehandlung unverzüglich zu unterrichten. Es ist wichtig, dass Sie Prof. Dr. F. Rosenow oder Frau Dr. K. Hattemer (Tel. 06421-5865200) umgehend über alle Veränderungen Ihres Zustandes informieren, ganz gleich ob Sie diese mit der Medikation in Verbindung bringen oder nicht. Sie müssen dem Prüfarzt jede Änderung Ihrer Medikamenteneinnahme mitteilen, ob von Ihrem Hausarzt verordnet oder von Ihnen in der Apotheke gekauft. Eine Gesundheitsschädigung, die als Folge der klinischen Prüfung eingetreten sein könnte, ist dem Versicherer unverzüglich anzuzeigen. Sie haben alle zweckmäßigen Maßnahmen zu treffen, die der Aufklärung der Ursache und des Umfanges des eingetretenen Schadens und der Minderung des Schadens dienen.

Bitte beachten Sie, dass darüber hinaus weitere Pflichten, die Sie zu erfüllen haben, bestehen, die Sie den Obliegenheiten in den allgemeinen Versicherungsbedingungen entnehmen können. Ihr Prüfarzt wird Ihnen eine Kopie der Versicherungsbedingungen zusammen mit dieser Probandeninformationsschrift aushändigen.

10. Datenschutz

Die Untersuchungsergebnisse werden auf einem so genannten Prüfbogen festgehalten, der –anstatt Ihres Namens– nur mit pseudonymisierten Angaben, d.h. mit einer Identifikationsnummer, versehen ist. Die Weitergabe dieser pseudonymisierten Daten erfolgt ausschließlich zu statistischen Zwecken und sie werden ausnahmslos darin nicht namentlich



Epicure

V02F

genannt. Auch in etwaigen Veröffentlichungen der Daten dieser klinischen Prüfung werden Sie nicht namentlich genannt.

Die pseudonymisierten Daten dieser Studie werden von Mitarbeitern oder Beauftragten der Philipps-Universität Marburg gesammelt und evtl. den Behörden bei möglichen Nebenwirkungsmeldungen vorgelegt.

11. Haben sie noch Fragen?

Sollten Sie noch weitere Fragen zu den eingesetzten Medikamenten, zum Studienablauf oder zu den notwendigen Untersuchungen haben, so zögern Sie nicht, diese an Frau Dr. K. Hattermer und Herrn Prof. Dr. F. Rosenow (06421-5865200) zu stellen. Man wird diese Fragen gerne ausführlich und umfassend beantworten.

Neben Ihrem behandelnden Arzt steht Ihnen bei der zuständigen Bundesoberbehörde (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte) zusätzlich eine Kontaktstelle zur Verfügung, bei der Sie relevante Informationen, welche die klinische Studie betreffen, einholen können. Die Adresse lautet:

Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
Kurt-Georg-Kiesinger-Allee 3
D-53175 Bonn
Kontakt:
Tel.: +49 (0)228 2074318
E-Mail: poststelle@bfarm.de

Sie erhalten eine Kopie dieser Information, der Versicherungsbedingungen und ein Exemplar der Einwilligungserklärung.

Vielen Dank für das Lesen dieser Information

2 Einverständniserklärung

- Exemplar zur Ablage im Studienordner -

**Untersuchung des Einflusses von Carbamazepin auf die mittels transkranieller
Magnetstimulation gemessene kortikale Exzitabilität des menschlichen Motorkortex in
Abhängigkeit vom Polymorphismus für SCN1A.**

Einwilligungserklärung zur klinischen Prüfung

Ich bin durch den (die) Arzt (Ärztin),

Herrn (Frau) Dr. med.: _____ am _____

über Wesen, Bedeutung und Tragweite der klinischen Prüfung, aufgeklärt und eingehend
über die bekannten Nebenwirkungen sowie Risiken der in Frage kommenden Behandlungs-
methoden informiert worden. Mir wurde genügend Zeit für die Entscheidung über die
Teilnahme an der Studie eingeräumt.

Mit der Behandlung erkläre ich mich einverstanden, behalte mir jedoch vor, jederzeit ohne
Angabe von Gründen und ohne dass mir daraus Nachteile entstehen, aus der klinischen
Prüfung auszuscheiden.

Mir ist bekannt, dass ich bei Vorliegen des Genotypen AG zu einem späteren Zeitpunkt
eventuell erneut kontaktiert werde.

Über den Abschluss einer Versicherung bin ich informiert worden.

Eine Patienteninformation, ein Exemplar meiner Einverständniserklärung, die Information
und Einverständniserklärung zum Datenschutz sowie die allgemeinen Versicherungs-
bedingungen wurden mir ausgehändigt.

Ich erkläre hiermit meine freiwillige Teilnahme an dieser klinischen Studie.

Name Proband/in:

Studennummer Proband/in:

.....

Geburtsdatum:

.....

.....

Unterschrift Proband/in

Ort und Datum der Unterschrift

Ich bestätige, dass ich oben genannte/r Proband/in, die ihr/sein Einverständnis für die
Teilnahme gegeben hat, bezüglich Zweck, Nutzen, Art und Risiken der Studie aufgeklärt
habe.

.....
Unterschrift des aufklärenden Arztes

.....
Ort und Datum der Unterschrift

- Exemplar zur Ablage im Studienordner-

**Untersuchung des Einflusses von Carbamazepin auf die mittels transkranieller
Magnetstimulation gemessene kortikale Exzitabilität des menschlichen Motorkortex in
Abhängigkeit vom Polymorphismus für SCN1A.**

Einwilligung zum Datenschutz

Bei klinischen Prüfungen werden persönliche Daten und medizinische Befunde über Sie erhoben. Die Erhebung, Weitergabe, Speicherung und Auswertung dieser Angaben über Ihre Gesundheit erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor Teilnahme an der klinischen Prüfung folgende freiwillige Einwilligung voraus, d.h. ohne die nachfolgende Einwilligung können Sie nicht an der klinischen Prüfung teilnehmen.

- 1) Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser klinischen Studie erhobenen Daten/Angaben über meine Gesundheit auf Fragebögen und elektronischen Datenträgern aufgezeichnet und ohne Namensnennung (pseudonymisiert) weitergegeben werden an

- a) den Auftraggeber (Sponsor)* der Studie zur wissenschaftlichen Auswertung, Bewertung von unerwünschten Ereignissen oder Beantragung der Zulassung;

*Anschrift des Auftraggebers:

Philipps-Universität Marburg
Biegenstrasse 10
35037 Marburg

- b) die zuständige(n) Überwachungsbehörde(n) (Landesamt oder Bezirksregierung), Bundesoberbehörde (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte), Ethik-Kommission und ausländischen Behörden zur Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der Studie, zur Bewertung der Studienergebnisse und unerwünschter Ereignisse oder zur Beantragung der Zulassung.

- 2) Außerdem erkläre ich mich damit einverstanden, dass ein autorisierter und zur Verschwiegenheit verpflichteter Beauftragter des Auftraggebers, der zuständigen inländischen und ausländischen Überwachungsbehörde oder der zuständigen Bundesoberbehörde in meine beim Prüfarzt vorhandenen personenbezogenen Daten Einsicht nimmt, soweit dies für die Überprüfung der Studie notwendig ist. Für diese Maßnahme entbinde ich den Prüfarzt von der ärztlichen Schweigepflicht.

- 3) Die Einwilligung zur Erhebung und Verarbeitung der Angaben über meine Gesundheit ist unwiderruflich. Ich bin bereits darüber aufgeklärt worden, dass ich jederzeit die Teilnahme an der klinischen Prüfung beenden kann. Im Fall des Widerrufs erkläre ich mich damit einverstanden, dass die bis zu diesem Zeitpunkt



gespeicherten Daten ohne Namensnennung weiterhin verwendet werden dürfen,
soweit dies erforderlich ist, um

- a) Wirkungen des zu prüfenden Arzneimittels festzustellen,
- b) Sicherzustellen, dass schutzwürdige Interessen der betroffenen Person nicht beeinträchtigt werden,
- c) Der Pflicht zur Vorlage vollständiger Zulassungsunterlagen zu genügen.

Name Proband/in:

Studennummer Proband/in:

.....

Unterschrift Proband/in

Ort und Datum der Unterschrift

- Exemplar für den Probanden-

**Untersuchung des Einflusses von Carbamazepin auf die mittels transkranieller
Magnetstimulation gemessene kortikale Exzitabilität des menschlichen Motorkortex in
Abhängigkeit vom Polymorphismus für SCN1A.**

Einwilligungserklärung zur klinischen Prüfung

Ich bin durch den (die) Arzt (Ärztin),

Herrn (Frau) Dr. med.: _____ am _____

über Wesen, Bedeutung und Tragweite der klinischen Prüfung, aufgeklärt und eingehend
über die bekannten Nebenwirkungen sowie Risiken der in Frage kommenden Behandlungs-
methoden informiert worden. Mir wurde genügend Zeit für die Entscheidung über die
Teilnahme an der Studie eingeräumt.

Mit der Behandlung erkläre ich mich einverstanden, behalte mir jedoch vor, jederzeit ohne
Angabe von Gründen und ohne dass mir daraus Nachteile entstehen, aus der klinischen
Prüfung auszuscheiden.

Mir ist bekannt, dass ich bei Vorliegen des Genotypen AG zu einem späteren Zeitpunkt
eventuell erneut kontaktiert werde.

Über den Abschluss einer Versicherung bin ich informiert worden.

Eine Patienteninformation, ein Exemplar meiner Einverständniserklärung, die Information
und Einverständniserklärung zum Datenschutz sowie die allgemeinen Versicherungs-
bedingungen wurden mir ausgehändigt.

Ich erkläre hiermit meine freiwillige Teilnahme an dieser klinischen Studie.

Name Proband/in:

Studennummer Proband/in:

.....

Geburtsdatum:

.....

Unterschrift Proband/in

Ort und Datum der Unterschrift

Ich bestätige, dass ich oben genannte/r Proband/in, die ihr/sein Einverständnis für die
Teilnahme gegeben hat, bezüglich Zweck, Nutzen, Art und Risiken der Studie aufgeklärt
habe.

.....

Unterschrift des aufklärenden Arztes

.....

Ort und Datum der Unterschrift

- Exemplar für den Probanden-

**Untersuchung des Einflusses von Carbamazepin auf die mittels transkranieller
Magnetstimulation gemessene kortikale Exzitabilität des menschlichen Motorkortex in
Abhängigkeit vom Polymorphismus für SCN1A.**

Einwilligung zum Datenschutz

Bei klinischen Prüfungen werden persönliche Daten und medizinische Befunde über Sie erhoben. Die Erhebung, Weitergabe, Speicherung und Auswertung dieser Angaben über Ihre Gesundheit erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor Teilnahme an der klinischen Prüfung folgende freiwillige Einwilligung voraus, d.h. ohne die nachfolgende Einwilligung können Sie nicht an der klinischen Prüfung teilnehmen.

- 1) Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser klinischen Studie erhobenen Daten/Angaben über meine Gesundheit auf Fragebögen und elektronischen Datenträgern aufgezeichnet und ohne Namensnennung (pseudonymisiert) weitergegeben werden an

- a) den Auftraggeber (Sponsor)* der Studie zur wissenschaftlichen Auswertung, Bewertung von unerwünschten Ereignissen oder Beantragung der Zulassung;

*Anschrift des Auftraggebers:

Philipps-Universität Marburg
Biegenstrasse 10
35037 Marburg

- c) die zuständige(n) Überwachungsbehörde(n) (Landesamt oder Bezirksregierung), Bundesoberbehörde (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte), Ethik-Kommission und ausländischen Behörden zur Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der Studie, zur Bewertung der Studienergebnisse und unerwünschter Ereignisse oder zur Beantragung der Zulassung.

- 4) Außerdem erkläre ich mich damit einverstanden, dass ein autorisierter und zur Verschwiegenheit verpflichteter Beauftragter des Auftraggebers, der zuständigen inländischen und ausländischen Überwachungsbehörde oder der zuständigen Bundesoberbehörde in meine beim Prüfarzt vorhandenen personenbezogenen Daten Einsicht nimmt, soweit dies für die Überprüfung der Studie notwendig ist. Für diese Maßnahme entbinde ich den Prüfarzt von der ärztlichen Schweigepflicht.

- 5) Die Einwilligung zur Erhebung und Verarbeitung der Angaben über meine Gesundheit ist unwiderruflich. Ich bin bereits darüber aufgeklärt worden, dass ich jederzeit die Teilnahme an der klinischen Prüfung beenden kann. Im Fall des Widerrufs erkläre ich mich damit einverstanden, dass die bis zu diesem Zeitpunkt gespeicherten Daten ohne Namensnennung weiterhin verwendet werden dürfen, soweit dies erforderlich ist, um



- d) Wirkungen des zu prüfenden Arzneimittels festzustellen,
- e) Sicherzustellen, dass schutzwürdige Interessen der betroffenen Person nicht beeinträchtigt werden,
- f) Der Pflicht zur Vorlage vollständiger Zulassungsunterlagen zu genügen.

Name Proband/in:

.....

Studiennummer Proband/in:

.....

Unterschrift Proband/in

.....

Ort und Datum der Unterschrift

3 Verzeichnis akademischer Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren

Adamkiewicz, Aumüller, Barth, Basler, Baum, Bien, Cetin, Cordes, Czubayko, Daut, Dodel, Engenhardt-Cabillic, Feuser, Fuchs-Winkelmann, Funck, Garten, Gemsä, Geks, Gerdes, Görg, Grimm, Gress, Grundmann, Grzeschik, Hamer, Hertl, Hilt, Hofmann, Hoyer, Jerrentrup, Jacob, Kann, Kim-Berger, Klose, Koehler, Koolman, Krieg, Kroll, Kuhn, Kölsch, Lang, Langer, Lill, Löffler, Lohoff, Maier, Mandrek, Maisch, Martin, Moll, Moosdorf, Mueller, Mutters, Netter, Neubauer, Neumüller, Oertel, Pagenstecher, Plant, Renz, Richter, Riße, Rosenow, Rothmund, Röhm, Röper, Schäfer, Schäfer, Schmidt, , Schnabel, Schrader, Seitz, Sommer, Steiniger, Tibesku, Vogelmeier, Wagner, Weihe, Werner, Westermann, Westphal, Wulf, Zemlin

4 Danksagung

Ich möchte mich bei allen Beteiligten des EPICURE-Projektes bedanken.

Hier ist vor allem Herrn Prof. Dr. F. Rosenow für die Überlassung des Themas sowie der weiteren wissenschaftlichen Betreuung zu nennen.

Besonderer Dank gilt PD Dr. med. K. Menzler für ihre konstruktiven Hinweise während der Studiendurchführung sowie weiteren tatkräftigen Hilfen bei der Fertigstellung dieser Arbeit. Zusätzlich gab die mir die Einführung in die Transkranielle Magnetstimulation und erklärte den Umgang mit den Stimulatoren Magstim 200 (Magstim • , Whitland, Dyfeld, UK).

Des Weiteren danke ich Dr. A. Hermsen für ihre Betreuung und Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Außerdem gilt mein Dank den zahlreichen Probanden für ihre Teilnahme an unserer Studie und ihrem Engagement und dem zeitlichen Aufwand der damit verbunden war.